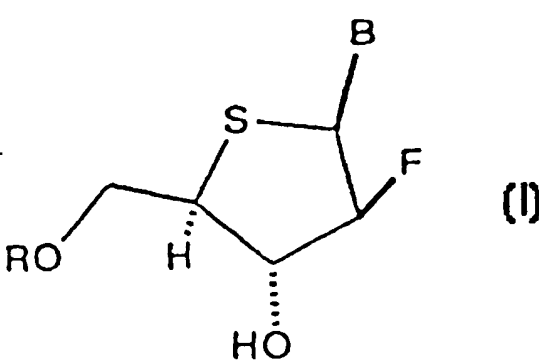
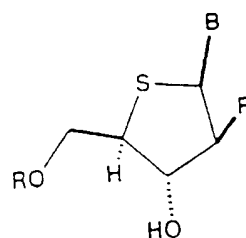




<p>(51) 国際特許分類6 C07D 473/00, 473/16, 473/18, 473/34, A61K 31/52, C07H 19/19, 19/20</p>	<p>A1</p>	<p>(11) 国際公開番号 WO97/37993</p> <p>(43) 国際公開日 1997年10月16日(16.10.97)</p>
<p>(21) 国際出願番号 PCT/JP97/01205</p> <p>(22) 国際出願日 1997年4月9日(09.04.97)</p> <p>(30) 優先権データ 特願平8/111968 1996年4月9日(09.04.96) JP 特願平8/215083 1996年7月26日(26.07.96) JP</p> <p>(71) 出願人 (米国を除くすべての指定国について) ヤマサ醤油株式会社(YAMASA CORPORATION)[JP/JP] 〒288 千葉県銚子市新生町二丁目10番地の1 Chiba, (JP)</p> <p>(72) 発明者 ; および</p> <p>(75) 発明者 / 出願人 (米国についてのみ) 山田浩平(YAMADA, Kohei)[JP/JP] 町田治彦(MACHIDA, Haruhiko)[JP/JP] 〒288 千葉県銚子市栄町2-2-2 Chiba, (JP) 吉村祐一(YOSHIMURA, Yuichi)[JP/JP] 〒314-02 茨城県鹿嶋郡波崎町柳川2609-19 Ibaraki, (JP) 渡辺美穂理(WATANABE, Mikari)[JP/JP] 〒288 千葉県銚子市末広町1-12 Chiba, (JP)</p>	<p>(74) 代理人 弁理士 佐藤一雄, 外(SATO, Kazuo et al.) 〒100 東京都千代田区丸の内三丁目2番3号 富士ビル323号 協和特許法律事務所 Tokyo, (JP)</p> <p>(81) 指定国 CA, CN, JP, KR, US, 欧州特許 (AT, BE, CH, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE).</p> <p>添付公開書類 国際調査報告書</p>	
<p>(54) Title: 9-(2-DEOXY-2-FLUORO-4-THIO-β-D-ARABINOFURANOSYL)PURINE DERIVATIVES</p> <p>(54) 発明の名称 9 (2-デオキシ-2-フルオロ-4-チオ-β-D-アラビノフラノシル)プリン誘導体</p> <p>(57) Abstract</p> <p>9-(2-Deoxy-2-fluoro-4-thio-β-D-arabino furanosyl)purine derivatives of general formula (I) having excellent antiviral activity, process for producing the same, and the use thereof. In said formula (I) B represents a base selected from the group consisting of purines, azapurines and deazapurines which may be substituted by halogeno, alkyl, haloalkyl, alkenyl, haloalkenyl, alkynyl, amino, alkylamino, hydroxy, hydroxyamino, aminoxy, alkoxy, mercapto, alkylmercapto, aryl, aryloxy or cyano; and R represents hydrogen or phosphate residue.</p> <div style="text-align: center;">  <p>(I)</p> </div>		

(57) 要約

優れた抗ウイルス活性を有する式〔I〕で表される9-(2-デオキシ-2-フルオロ-4-チオ-β-D-アラビノフラノシル)プリン誘導体、その製造方法及びその用途に関する。



式〔I〕

(式中、Bはプリン、アザプリンおよびデアザプリンからなる群から選択される塩基を示し、それらはハロゲン原子、アルキル基、ハロアルキル基、アルケニル基、ハロアルケニル基、アルキニル基、アミノ基、アルキルアミノ基、水酸基、ヒドロキシアミノ基、アミノキシ基、アルコキシ基、メルカプト基、アルキルメルカプト基、アリール基、アリールオキシ基、シアノ基によって置換されていてよい。また、Rは水素原子またはリン酸残基を示す。)

参考情報

PCTに基づいて公開される国際出願のパンフレット第1頁に記載されたPCT加盟国を特定するために使用されるコード

AL	アルバニア	ES	スペイン	LR	リベリア	SG	シンガポール
AM	アルメニア	FI	フィンランド	LS	レソト	SI	スロヴェニア
AT	オーストリア	FR	フランス	LT	リトアニア	SK	スロヴァキア共和国
AU	オーストラリア	GA	ガボン	LU	ルクセンブルグ	SL	シエラレオネ
AZ	アゼルバイジャン	GB	英国	LV	ラトヴィア	SN	セネガル
BA	ボスニア・ヘルツェゴビナ	GE	グルジア	MC	モナコ	SZ	スワジランド
BB	バルバドス	GH	ガーナ	MD	モルドヴァ共和国	TD	チャード
BE	ベルギー	GM	ガンビア	MG	マダガスカル	TG	トーゴ
BG	ブルガリア	GN	ギニア	MK	マケドニア旧ユーゴスラヴィア共和国	TJ	タジキスタン
BJ	ベナン	GR	ギリシャ	ML	マリ	TM	トルクメニスタン
BR	ブラジル	HU	ハンガリー	MN	モンゴル	TR	トルコ
BY	ベラルーシ	ID	インドネシア	MR	モーリタニア	TT	トリニダード・トバゴ
CA	カナダ	IE	アイルランド	MW	マラウイ	UA	ウクライナ
CF	中央アフリカ共和国	IL	イスラエル	MX	メキシコ	UG	ウガンダ
CG	コンゴ	IS	アイスランド	NE	ニジェール	US	米国
CH	スイス	IT	イタリア	NL	オランダ	UZ	ウズベキスタン
CI	コート・ジボアール	JP	日本	NO	ノルウェー	VN	ヴェトナム
CM	カメルーン	KE	ケニア	NZ	ニュージーランド	YU	ユーゴスラビア
CN	中国	KG	キルギスタン	PL	ポーランド	ZW	ジンバブエ
CU	キューバ	KP	朝鮮民主主義人民共和国	PT	ポルトガル		
CZ	チェッコ共和国	KR	大韓民国	RO	ルーマニア		
DE	ドイツ	KZ	カザフスタン	RU	ロシア連邦		
DK	デンマーク	LC	セントルシア	SD	スーダン		
EE	エストニア	LI	リヒテンシュタイン	SE	スウェーデン		
		LK	スリランカ				

明 細 書

9-(2-デオキシ-2-フルオロ-4-チオ-β-D-アラビノ
フラノシル) プリン誘導体

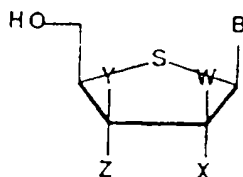
技 術 分 野

本発明は、新規な9-(2-デオキシ-2-フルオロ-4-チオ-β-D-アラビノフラノシル) プリン誘導体、その製造方法およびその用途に関するものである。

背 景 技 術

バーミンガム大学のグループは、国際特許出願PCT/GB90/01518 (国際公開番号WO91/04982) において、1-(2-フルオロ-4-チオ-β-D-アラビノフラノシル)-5-メチルウラシルおよび1-(2-フルオロ-4-チオ-β-D-アラビノフラノシル)-5-ヨードシトシンに関して言及している。

また最近、NIHのグループは、下記式で表される1-(2,3-ジデオキシ-2-フルオロ-4-チオ-β-D-エリスローペンタフラノシル)ウラシルなどの化合物に関して報告している (Tetrahedron Letters, 35, 7569-7572(1994)、Tetrahedron Letters, 35, 7573-7576(1994)、Chemistry Letters, 301-302(1995))。



1a,b; W=X=Y=Z=H
2a,b; W=F, X=Y=Z=H
3a,b; X=F, W=Y=Z=H
4a,b; Y=F, W=X=Z=H
5a,b; Z=F, W=X=Y=H

a シリーズ: B = ウラシル
b シリーズ: B = シトシン

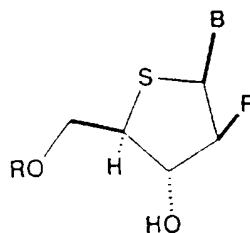
しかし、いずれのグループもピリミジンヌクレオシドに関するものであって、プリンヌクレオシドに関しては何等言及していない。

したがって、本発明は、新規で有用な 9-(2-デオキシ-2-フルオロ-4-チオ-β-D-アラビノフラノシル) プリン誘導体を提供することを目的とする。

発明の開示

本発明者らは、グルコースを出発原料とする 2'-デオキシ-2'-置換-4'-チオヌクレオシド誘導体の簡便な合成法を開発した(WO 96/01834)。今回これらの知見をもとにさらに種々研究を重ねた結果、9-(2-デオキシ-2-フルオロ-4-チオ-β-D-アラビノフラノシル) プリン誘導体の簡便な合成法を確立し、得られた化合物が優れた抗ウイルス活性を有することを見出し、本発明を完成させた。

すなわち、本発明は、下記式〔I〕で表される 9-(2-デオキシ-2-フルオロ-4-チオ-β-D-アラビノフラノシル) プリン誘導体、および当該化合物を有効成分として含有してなる医薬組成物、特に抗ウイルス剤に関するものである。



式〔I〕

(式中、Bはプリン、アザプリンおよびデアザプリンからなる群から選択される塩基を示し、それらはハロゲン原子、アルキル基、ハロアルキル基、アルケニル

基、ハロアルケニル基、アルキニル基、アミノ基、アルキルアミノ基、水酸基、ヒドロキシアミノ基、アミノキシ基、アルコキシ基、メルカプト基、アルキルメルカプト基、アリール基、アリールオキシ基、シアノ基によって置換されているもよい。また、Rは水素原子またはリン酸残基を示す。）

また、本発明は、下記の第1工程～第3工程よりなる、上記式〔I〕で表される9-（2-デオキシ-2-フルオロ-4-チオ-β-D-アラビノフラノシル）プリン誘導体の製造方法に関するものである。

第1工程：

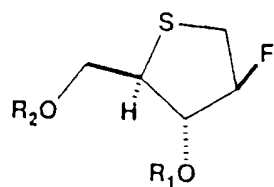
式〔II〕で表される化合物の1級水酸基を保護基により保護した後、ジエチルアミノサルファートリフルオライド（DAST）と反応させて式〔III〕で表される化合物を得る工程



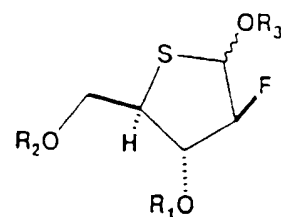
（式中、R₁およびR₂はアルキル基、シリル基またはアシル基を示す。）

第2工程：

式〔III〕で表される化合物を酸化剤と反応させてスルホキシドとした後、酸無水物もしくは酸塩化物で処理することでプンメラ（Pummerer）転移反応に付して式〔IV〕で表される化合物を得る工程



式 [III]

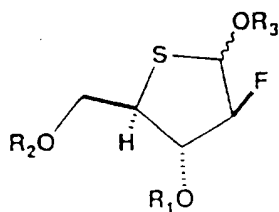


式 [IV]

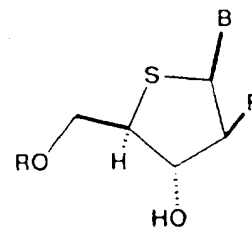
(式中、 R_1 および R_2 は前記と同意義。 R_3 はアシル基を示す。)

第3工程:

ルイス酸触媒の存在下、式 [IV] で表される化合物と B で表される塩基とをグリコシル化反応に付して保護基を有する化合物を得、保護基を除去後、所望により糖部 5' 位をリン酸化することで式 [I] で表される 9-(2-デオキシ-2-フルオロ-4-チオ-β-D-アラビノフラノシル) プリン誘導体を得る工程



式 [IV]



式 [I]

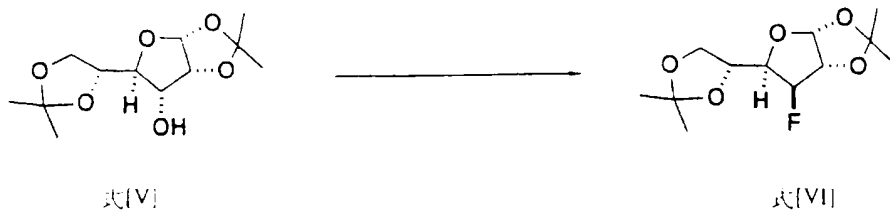
(式中、B、R、 R_1 、 R_2 および R_3 は前記と同意義。)

さらにまた、本発明は下記の第1工程～第4工程よりなる、上記式 [I] で表される 9-(2-デオキシ-2-フルオロ-4-チオ-β-D-アラビノフラノシル) プリン誘導体の製造方法に関するものである。

第1工程:

式 [V] で表される化合物の水酸基に脱離基を導入した後、フッ素原子を導入することの可能な求核試薬で処理し、式 [VI] で表される化合物を得る工程

第1工程



第2工程：

式〔V I〕で表される化合物の5, 6位イソプロピリデン基の選択的脱保護、1級水酸基の選択的保護と2級水酸基への脱離基の導入、1級水酸基の脱保護、5, 6-エポキシ化、硫化試薬による5, 6-チイラン化、および求核試薬によるチイランの開環とアシル基の導入により式〔V I I〕で表される化合物を得る

工程 第2工程

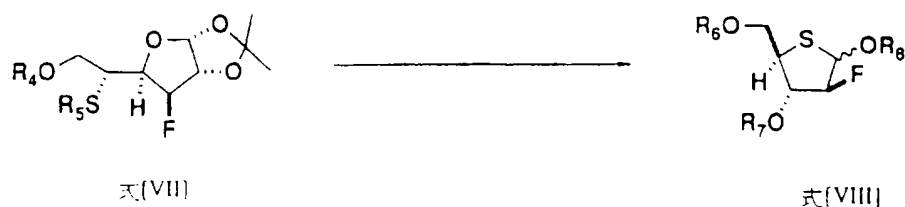


(式中、 R_4 および R_5 はアルキル基またはアシル基を示す。)

第3工程：

式〔V I I〕で表される化合物の1, 2位イソプロピリデン基を加水分解後、酸化剤により酸化的減炭反応を行い、1位をアルコキシ化後、水酸基を保護基で保護して式〔V I I I〕で表される化合物を得る工程

第3工程



(式中、 R_4 と R_5 は前記と同意義。 R_6 と R_7 はアルキル基あるいはアシル基、 R_8 はアルキル基を示す。)

第4工程：

式〔VIII〕で表される化合物の1位アルコキシ基を臭化水素-酢酸溶液で処理してプロモ化し、活性化したBで表される塩基とグリコシル化反応に付して保護基を有する化合物を得、保護基を除去後、所望により糖部5'位をリン酸化することで式〔I〕で表される9-(2-デオキシ-2-フルオロ-4-チオ-β-D-アラビノフラノシル)プリン誘導体を得る工程

第4工程



(式中、 R_6 、 R_7 、 R_8 、BおよびRは前記と同意義)。

発明を実施するための最良の形態

(1) 本発明の化合物

本発明の化合物は、前記式〔I〕で表される9-(2-デオキシ-2-フルオロ-4-チオ-β-D-アラビノフラノシル)プリン誘導体であり、式中のBで表される塩基としてはプリン、アザプリンおよびデアザプリンからなる群から選択される。これらの塩基は、ハロゲン原子、アルキル基、ハロアルキル基、アルケニル基、ハロアルケニル基、アルキニル基、アミノ基、アルキルアミノ基、水酸基、ヒドロキシアミノ基、アミノキシ基、アルコキシ基、メルカプト基、アルキルメルカプト基、アリール基、アリールオキシ基、シアノ基などの置換基を有していてもかまわない。置換基の数及び置換位置は特に制限されるものではない。

置換基としてのハロゲン原子は、塩素、フッ素、ヨウ素、臭素が例示される。アルキル基としては、メチル、エチル、プロピルなどの炭素数1～7の低級アルキル基が例示される。ハロアルキル基としては、フルオロメチル、ジフルオロメチル、トリフルオロメチル、プロモメチル、プロモエチルなどの炭素数1～7のアルキルを有するハロアルキル基が例示される。アルケニル基としては、ビニル、アリルなどの炭素数2～7のアルケニル基が例示される。ハロアルケニル基としては、プロモビニル、クロロビニルなどの炭素数2～7のアルケニルを有するハロアルケニル基が例示される。アルキニル基としては、エチニル、プロピニルなどの炭素数2～7のアルキニル基が例示される。アルキルアミノ基としては、メチルアミノ、エチルアミノなどの炭素数1～7のアルキルを有するアルキルアミノ基が例示される。

アルコキシ基としては、メトキシ、エトキシなどの炭素数1～7のアルコキシ基が例示される。アルキルメルカプト基としては、メチルメルカプト、エチルメルカプトなどの炭素数1～7のアルキルを有するアルキルメルカプト基が例示される。アリール基としては、フェニル基：メチルフェニル、エチルフェニルなどの炭素数1～5のアルキルを有するアルキルフェニル基：メトキシフェニル、エトキシフェニルなどの炭素数1～5のアルコキシを有するアルコキシフェニル基：ジメチルアミノフェニル、ジエチルアミノフェニルなどの炭素数1～5のアルキルアミノを有するアルキルアミノフェニル基：クロロフェニル、プロモフェニルなどのハロゲンフェニル基などが例示される。

プリン塩基を具体的に例示すれば、プリン、6-アミノプリン（アデニン）、6-ヒドロキシプリン、6-フルオロプリン、6-クロロプリン、6-メチルアミノプリン、6-ジメチルアミノプリン、6-トリフルオロメチルアミノプリン、6-ベンゾイルアミノプリン、6-アセチルアミノプリン、6-ヒドロキシアミノプリン、6-アミノオキシプリン、6-メトキシプリン、6-アセトキシプリ

ン、6-ベンゾイルオキシプリン、6-メチルプリン、6-エチルプリン、6-トリフルオロメチルプリン、6-フェニルプリン、6-メルカプトプリン、6-メチルメルカプトプリン、6-アミノプリン-1-オキシド、6-ヒドロキシプリン-1-オキシド、2-アミノ-6-ヒドロキシプリン（グアニン）、2, 6-ジアミノプリン、2-アミノ-6-クロロプリン、2-アミノ-6-ヨードプリン、2-アミノプリン、2-アミノ-6-メルカプトプリン、2-アミノ-6-メチルメルカプトプリン、2-アミノ-6-ヒドロキシアミノプリン、2-アミノ-6-メトキシプリン、2-アミノ-6-ベンゾイルオキシプリン、2-アミノ-6-アセトキシプリン、2-アミノ-6-メチルプリン、2-アミノ-6-サイクロプロピルアミノメチルプリン、2-アミノ-6-フェニルプリン、2-アミノ-8-ブロモプリン、6-シアノプリン、6-アミノ-2-クロロプリン（2-クロロアデニン）、6-アミノ-2-フルオロプリン（2-フルオロアデニン）などが挙げられる。

アザプリン塩基およびデアザプリン塩基を具体的に例示すれば、6-アミノ-3-デアザプリン、6-アミノ-8-アザプリン、2-アミノ-6-ヒドロキシ-8-アザプリン、6-アミノ-7-デアザプリン、6-アミノ-1-デアザプリン、6-アミノ-2-アザプリンなどが挙げられる。

本発明の代表的な化合物を具体的に例示すれば、たとえば以下に示す化合物またはその5'-リン酸エステルが挙げられる。

9-（2-デオキシ-2-フルオロ-4-チオ-β-D-アラビノフラノシル）アデニン

2-クロロ-9-（2-デオキシ-2-フルオロ-4-チオ-β-D-アラビノフラノシル）アデニン

2-フルオロ-9-（2-デオキシ-2-フルオロ-4-チオ-β-D-アラビノフラノシル）アデニン

2-アミノ-6-クロロ-9-(2-デオキシ-2-フルオロ-4-チオ- β -D-アラビノフラノシル) プリン

2-アミノ-6-メトキシ-9-(2-デオキシ-2-フルオロ-4-チオ- β -D-アラビノフラノシル) プリン

2-アミノ-6-エトキシ-9-(2-デオキシ-2-フルオロ-4-チオ- β -D-アラビノフラノシル) プリン

2-アミノ-6-シクロプロピルアミノ-9-(2-デオキシ-2-フルオロ-4-チオ- β -D-アラビノフラノシル) プリン

9-(2-デオキシ-2-フルオロ-4-チオ- β -D-アラビノフラノシル) グアニン

9-(2-デオキシ-2-フルオロ-4-チオ- β -D-アラビノフラノシル) ヒポキサンチン

9-(2-デオキシ-2-フルオロ-4-チオ- β -D-アラビノフラノシル)-2, 6-ジアミノプリン

9-(2-デオキシ-2-フルオロ-4-チオ- β -D-アラビノフラノシル)-2, 6-ジクロロプリン

本発明の化合物は、塩、水和物または溶媒和物の形態であってもよい。そのような塩としては、Rが水素原子である場合には塩酸塩または硫酸塩などの酸付加物、Rがリン酸残基である場合にはナトリウム塩、カリウム塩またはリチウム塩などのアルカリ金属塩、カルシウム塩などのアルカリ土類金属塩もしくはアンモニウム塩などの薬学的に許容される任意の塩が例示される。

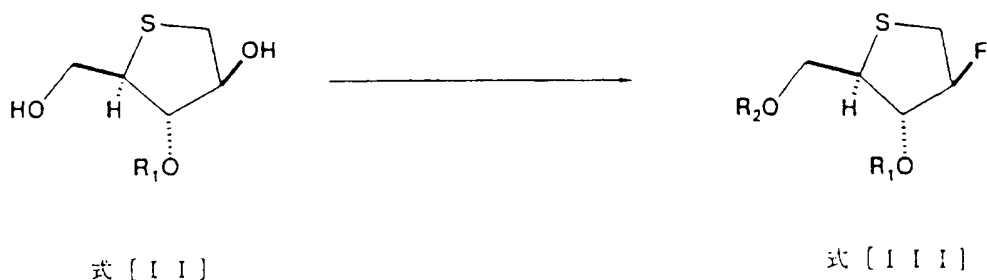
また、水和物または溶媒和物としては、本発明の化合物またはその塩1分子に対し、0.1~3.0分子の水または溶媒が付着したものを例示することができる。さらに、互変異性体などの各種異性体も本発明の化合物に包含されうる。

(2) 本発明の化合物の製造方法

本発明の化合物は下記の第1工程～第3工程からなる反応工程により製造することができる。

第1工程：

第1工程は、式〔I I〕で表される化合物の1級水酸基を適当な保護基により保護した後、D A S Tと反応させて式〔I I I〕で表される化合物を得る工程である。



(式中、 R_1 および R_2 はアルキル基、シリル基またはアシル基を示す。)

原料化合物は上記式〔I I〕で表され、該化合物は公知の方法によりグルコースより容易に合成することができる(J. Org. Chem., 61, 822(1996))。

式中の R_1 および R_2 は前記定義のとおりであり、具体的には、メチル、エチル、ベンジル、メトキシベンジル、ジメトキシベンジル、トリチル、ジメトキシトリチルなどの非置換あるいは置換アルキル基、*t*-ブチルジメチルシリル、*t*-ブチルジフェニルシリルなどの非置換あるいは置換シリル基、アセチル、ベンゾイル、ピバロイルなどのアシル基が例示できる。

保護基の導入は常法によって行うことができ、例えばシリル系保護基の場合、反応溶媒(たとえば、ピリジン、ピコリン、ジメチルアミノピリジン、ジメチルホルムアミド、アセトニトリル、塩化メチレンなどの単独または混合溶媒)中、式〔I I〕化合物1モルに対してシリル化剤(たとえば、*t*-ブチルジフェニルシリルクロリド、*t*-ブチルジメチルシリルクロリドなど)を1～10モル、必要によりイミダゾールなどの塩基を1～5モル用い、反応温度0～50℃で反応

させればよい。

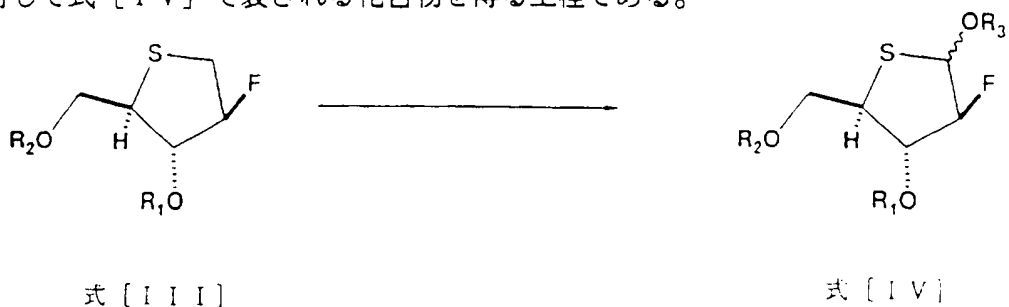
このようにして得られた保護基を有する化合物とDASTを反応させて式「III」化合物を得る。

DASTとの反応は、塩化メチレン、ジクロロエタン、ベンゼン、トルエン、キシレン、ヘキサンなどの溶媒中、必要に応じてアルゴン、窒素などの不活性ガス雰囲気下、式〔I I〕化合物1モルに対してDAST 1~20モル用い、反応温度は-100~150℃、好ましくは-80℃~室温で反応させることにより行うことができる。

式〔ⅠⅠⅠ〕化合物の単離は、通常の糖の分離精製手段を用いればよく、たとえば酢酸エチルと水で分配後、シリカゲルカラムクロマトグラフィーにより精製することができる。

第2工程：

第2工程は、式〔ⅠⅠⅠ〕で表される化合物を酸化剤と反応させてスルホキシドとした後、酸無水物もしくは酸塩化物で処理することでブンメラー転移反応に付して式〔ⅠⅤ〕で表される化合物を得る工程である。



(式中、 R_1 および R_2 は前記と同意義。 R_3 はアシル基を示す。)

スルホキシドへの誘導は常法に従って行うことができる。たとえば、塩化メチレン中アルゴンまたは窒素などの不活性ガス気流下、 $-100\sim 0^{\circ}\text{C}$ において *m*-クロロ過安息香酸で処理する方法 (J. Org. Chem., 61, 822(1996))、もしくはメタノールなどのアルコール系の溶媒中、メタ過ヨウ素酸ナトリウムで処理する

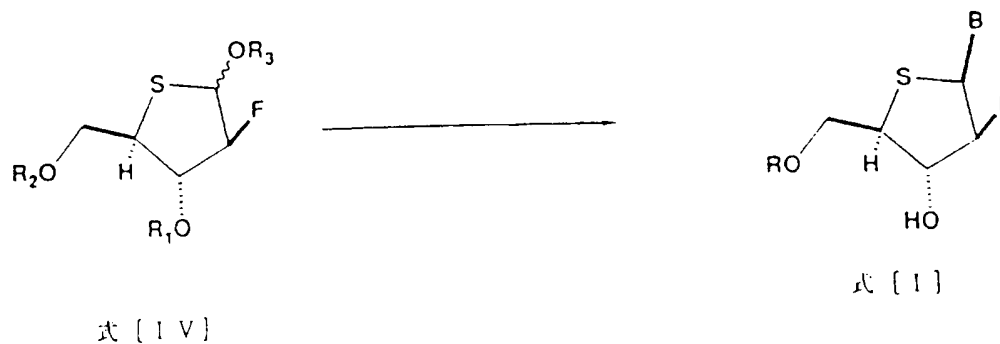
方法 (Tetrahedron Letter, 993(1979)) などを利用することができる。

次に、酸無水物もしくは酸塩化物処理によるプンメラ転移反応も常法により行うことができる。すなわち、必要によりアルゴンまたは窒素などの不活性ガス気流下、スルホキシド1モルに対して1～100モルの無水酢酸、トリフルオロ無水酢酸などの酸無水物あるいは塩化メシルなどの酸塩化物を用い、反応温度 $-80 \sim 150^{\circ}\text{C}$ で反応させることにより行うことができる。なお、用いる酸無水物もしくは酸塩化物は反応溶媒としても機能するが、必要に応じて塩化メチレンなどの有機溶媒中で上記反応を行わせることもできる。

このようにして得られた式 [I V] 化合物の単離は、通常の糖の分離精製手段を用いればよく、たとえば酢酸エチルと水で分配後、シリカゲルカラムクロマトグラフィーにより精製することができる。

第3工程：

第3工程は、ルイス酸触媒の存在下、式 [I V] で表される化合物とBで表される塩基とをグリコシル化反応に付して保護基を有する化合物を得、保護基を除去後、所望により糖部5'位をリン酸化することで式 [I] で表される9-(2-デオキシ-2-フルオロ-4-チオ- β -D-アラビノフラノシル) プリン誘導体を得る工程である。



(式中、 R_1 、 R_2 、 R_3 、BおよびRは前記と同意義。)

式 [I V] 化合物のグリコシル化反応は、必要によりアルゴンまたは窒素など

の不活性ガス気流下、塩化メチレン、クロロホルム、ジクロロエタン、アセトニトリル、ジメチルホルムアミドなどの溶媒中、式〔I V〕化合物1モルに対してBで表される塩基1～10モルとトリメチルシリルトリフルオロメタンスルホネート、四塩化すず、四塩化チタン、塩化亜鉛、三フッ化ホウ素などのルイス酸0.1～10モルとを用い、反応温度 $-50\sim 100^{\circ}\text{C}$ で反応させることにより実施することができる。塩基は常法によりシリル化してものを使用してもかまわない。

保護基の除去は、使用した保護基に応じて酸性加水分解、アルカリ性加水分解、フッ化テトラブチルアンモニウム処理、接触還元などの通常の処理を適宜選択して行なえばよい。たとえば、ベンジル系保護基の場合、塩化メチレン中、アルゴンまたは窒素などの不活性ガス気流下、 $-100^{\circ}\text{C}\sim$ 室温において三塩化ホウ素または三臭化ホウ素を用いる方法により脱保護することができる。

また、式〔I〕中、Rがリン酸残基である化合物を合成する場合、上述の脱保護終了後、オキシ塩化リン、テトラクロロピロリン酸、 β -シアノエチルリン酸とDCCなどの通常のヌクレオシド5'位の選択的リン酸化反応に使用するリン酸化剤と反応させ、常法により遊離酸型または塩型の目的化合物を得ることができる。

このようにして得られた本発明の化合物は、ヌクレオシドまたはヌクレオチドの単離精製に使用されている方法を適宜組み合わせて分離精製することができる。たとえば、ヌクレオシド体（式〔I〕のRが水素原子）の場合には、溶媒留去後、エタノール等の適当な溶媒から結晶化すればよく、必要に応じ塩型として得ることもできる。また、ヌクレオチド体（式〔I〕のRがリン酸残基）の場合には、イオン交換カラムクロマトグラフィー、活性炭などの吸着カラムクロマトグラフィーなどにより精製し、凍結乾燥または結晶化により遊離酸型を得ることができ、必要に応じて塩型として得ることもできる。

本発明の化合物は、上記の方法以外にも、以下に示す第1工程～第4工程よりなる方法にて製造することもできる。この方法は、反応条件が比較的マイルドであり、反応収率の向上、 β 体の収率向上などが達成または期待できる優れた方法である。

第1工程：

第1工程は、式〔V〕で表される化合物の水酸基に脱離基を導入した後、フッ素原子を導入することの可能な求核試薬で処理し、式〔V I〕で表される化合物を得る工程である。

第1工程



原料化合物は式〔V〕で表され、該化合物は公知の方法 (Carbohydr. Res., 24, 192(1972)) によりグルコースより容易に製造することができる。

導入する脱離基としては、メタンスホニル、p-トルエンシルホニル、ベンゼンシルホニル、イミダゾイルシルホニル、トリフルオロメタンスルホニルなどのシルホニル基、好ましくはメタンスルホニル基、p-トルエンシルホニル基、イミダゾイルシルホニル基を例示することができる。

脱離基の導入は、常法によって行えばよく、例えば、メタンスルホニル基、p-トルエンスルホニル基またはイミダゾイルスルホニル基の場合、反応溶媒（たとえば、ピリジン、ピコリン、ジメチルアミノピリジン、ジメチルホルムアミド、アセトニトリル、塩化メチレンなどの単独または混合溶媒）中、式〔V〕化合物 1 モルに対し、メタンスルホニルクロリド、p-トルエンスルホニルクロリド、あるいはスルフリルクロリドを 1～10 モル、必要によりイミダゾールなどの塩

基を2～50モル用い、反応温度 $-50\sim 50^{\circ}\text{C}$ 、好ましくは $0\sim 50^{\circ}\text{C}$ で反応させることにより実施できる。

フッ素原子を導入することの可能な求核試薬としては、フッ化カリウム（スプレードライ品を含む）、フッ化水素カリウム、フッ化アンモニウム、フッ化水素アンモニウム、フッ化テトラブチルアンモニウムなどを使用することができる。

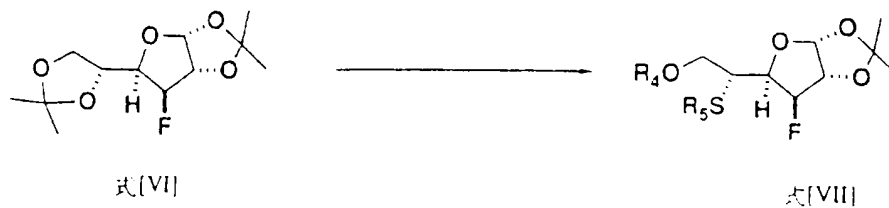
このような求核試薬との反応は、2-メトキシエタノール、2,3-ブタンジオールなどのグリコール系の溶媒中、式[V]化合物1モルに対して求核試薬2～100モル、好ましくは2～50モルを用い、室温 $\sim 300^{\circ}\text{C}$ 、好ましくは $50\sim 200^{\circ}\text{C}$ で反応させればよい。

このようにして得られた式[VI]化合物の単離は、通常の糖の分離精製手段を用いればよく、たとえば酢酸エチルと水で分配後、シリカゲルカラムクロマトグラフィーに付し、*n*-ヘキサン-酢酸エチルなどの有機溶媒で溶出することで単離精製することができる。

第2工程：

第2工程は、式[VI]で表される化合物の5,6位イソプロピリデン基の選択的脱保護、1級水酸基の選択的保護と2級水酸基への脱離基の導入、1級水酸基の脱保護と5,6-エポキシ化、硫化試薬による5,6-チイラン化、および求核試薬によるチイランの開環とアシル基の導入により式[VII]で表される化合物を得る工程である。

第2工程



(式中、 R_4 および R_5 はアルキル基またはアシル基を示す。)

5, 6位イソプロピリデン基の選択的脱保護は、通常の酸加水分解の方法で行えばよく、例えば用いる酸としては、塩酸、硫酸などの鉱酸、酢酸、トリフルオロ酢酸、p-トルエンスルホン酸などの有機酸を例示することができる。脱保護反応を実施する際、これらの使用する酸を適当な濃度になるように水で希釈し、また、必要の応じTHF、ジオキサンなどの有機溶媒との混合溶媒とし、-50~-150℃で、好ましくは-20~100℃で攪拌することにより脱保護反応を実施できる。

1級水酸基の選択的保護に用いる保護基としては、通常の水酸基の保護基でよく、ベンジル、ジメトキシベンジルなどのベンジル系保護基あるいはt-ブチルジメチルシリル、t-ブチルジフェニルシリル、トリエチルシリルなどのシリル系保護基、メトキシメチル、メトキシエトキシエチル、テトラヒドロフランテトラヒドロピランなどのエーテル系保護基、トリチル、モノメトキシトリチル、ジメトキシトリチルなどのトリチル系保護基及びアセチル、ベンゾイル、ピバロイルなどのアシル基などが例示できる。

保護基の導入は、常法によって行えばよく、例えば、t-ブチルジフェニルシリル基などのシリル系保護基またはベンゾイル基などのアシル基の場合、反応溶媒（たとえば、ピリジン、ピコリン、ジメチルアミノピリジン、ジメチルホルムアミド、アセトニトリル、塩化メチレンなどの単独または混合溶媒）中、式

[V I] 化合物1モルに対してシリル化剤（たとえば、t-ブチルジフェニルシリルクロリドなど）もしくはアシル化剤（たとえば、ベンゾイルクロリドなど）を0.8~10モル、必要によりイミダゾール、ピリジンなどの塩基を1~5モル用い、反応温度-20~50℃で反応させることにより実施できる。

また、2級水酸基へ導入する脱離基としては、第1工程で例示した脱離基と同じものを例示することができ、導入方法は第1工程に記載した方法と同様の方法により実施できる。

1級水酸基の脱保護は使用した保護基に応じ、酸性加水分解、アルカリ性加水分解及びエステル交換、フッ化物処理、接触還元などの通常の処理を適宜選択して行なえばよい。特に、アルカリ性加水分解及びエステル交換の場合、同条件にて同時にエポキシ化反応も進行する。しかし、アルカリ性加水分解及びエステル交換の条件でエポキシ化反応が不十分にしか進行しなかった場合または他の条件で脱保護を行なった場合は、脱保護により得られるシスジオール体を塩基処理することにより目的とするエポキシ体へ誘導することができる。この場合、用いる塩基としては、水素化ナトリウム、水素化カリウム、ブチルリチウム、リチウムジイソプロピルアミド、ナトリウムメトキシド、ナトリウムエトキシド、炭酸カリウム、炭酸ナトリウムなどが例示できる。塩基処理は、エーテル、THF、ジオキサンなどのエーテル系溶媒、メタノール、エタノールなどのアルコール系溶媒などの有機溶媒中、式〔V I〕化合物1モルに対して塩基を0.5～5モル用い、-50～120℃で処理することにより実施できる。

得られたエポキシ体のチイラン体への変換は、メタノール、エタノール、イソプロパノールなどのアルコール系溶媒、ピリジン、アセトニトリル、DMFなどの有機溶媒中、式〔V I〕化合物1モルに対して硫化試薬を0.1～10モル用い、0～150℃で処理することによって実施できる。使用する硫化試薬としては、チオ尿素、キサントート、チオカルボニルジイミダゾールなどが例示される。

得られたチイラン体の開環とアシル基の導入は、有機酸、有機酸塩、酸無水物の任意の混合物中、式〔V I〕化合物1モルに対して有機酸、有機酸塩または酸無水物を1～100モル用い、室温～200℃で処理することにより実施される。反応に使用する有機酸としては、酢酸、プロピオン酸、安息香酸、ピバル酸、トリフルオロ酢酸が、有機酸塩としては、酢酸ナトリウム、酢酸カリウム、酢酸リチウム、プロピオン酸ナトリウム、プロピオン酸カリウム、プロピオン酸リチウム、安息香酸ナトリウム、安息香酸カリウム、安息香酸リチウム、トリフルオロ

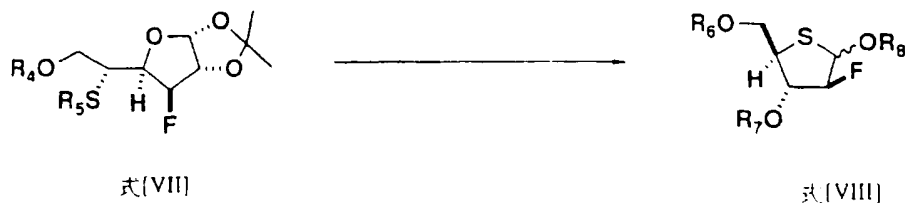
酢酸ナトリウム、トリフルオロ酢酸カリウム、トリフルオロ酢酸リチウムが、酸無水物としては、無水酢酸、無水プロピオン酸、無水安息香酸、無水ピバル酸、無水トリフルオロ酢酸などがそれぞれ例示される。

このようにして得られた式〔V I I〕化合物の単離は、通常の糖の分離精製手段を用いればよく、たとえば酢酸エチルと水で分配後、シリカゲルカラムクロマトグラフィーに付し、*n*-ヘキサン-酢酸エチルなどの有機溶媒で溶出することで単離精製することができる。

第3工程：

第3工程は、式〔V I I〕で表される化合物の1, 2位イソプロピリデン基を加水分解後、酸化剤により酸化的減炭反応を行い、1位をアルコキシ化後、水酸基を保護基で保護して式〔V I I I〕で表される化合物を得る工程である。

第3工程



(式中、 R_4 と R_5 は前記と同意義。 R_6 と R_7 はアルキル基あるいはアシル基、 R_8 はアルキル基を示す。)

1, 2位イソプロピリデン基の加水分解は、上記第2工程で説明した5, 6位イソプロピリデン基の脱保護と同様の方法により実施できる。

酸化的減炭反応は、メタノールなどのアルコール系溶媒、THF、ジオキサンなどのエーテル系溶媒、塩化メチレン、ジクロロエタン、ベンゼン、トルエンなどの有機溶媒単独あるいは水との混合溶液中、過ヨウ素酸ナトリウム、過マンガン酸カリウムなどの酸化剤を式〔V I I〕化合物1モルに対して0.1~10モル用い、 $-50 \sim 100^\circ\text{C}$ 、好ましくは、 $-20 \sim 50^\circ\text{C}$ で処理することにより

実施できる。

1位アルコキシ化反応は、メタノール、エタノール、イソプロパノール、*t*-ブタノール、ベンジルアルコールなどのアルコール溶媒中、大過剰の塩化水素を用いて-50~100℃で処理することにより実施できる。

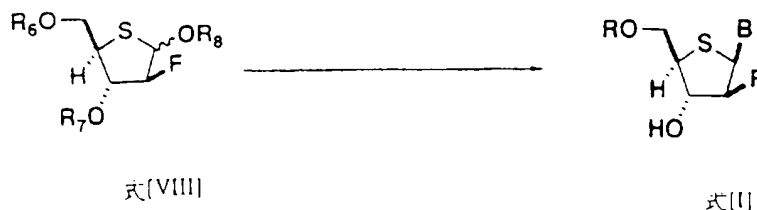
3位及び5位水酸基の保護基としては、通常の水酸基の保護基でよく、ベンジル、ジメトキシベンジルなどのベンジル系保護基あるいは*t*-ブチルジメチルシリル、*t*-ブチルジフェニルシリル、トリエチルシリルなどのシリル系保護基、メトキシメチル、メトキシエトキシエチル、テトラヒドロフラン、テトラヒドロピランなどのエーテル系保護基、トリチル、モノメトキシトリチル、ジメトキシトリチルなどのトリチル系保護基及びアセチル、ベンゾイル、ピバロイルなどのアシル基などが例示できる。保護基の導入は、第2工程記載の方法と同様な方法により実施することができる。

このようにして得られた式[VIII]化合物の単離は、通常の糖の分離精製手段を用いればよく、たとえば酢酸エチルと水で分配後、シリカゲルカラムクロマトグラフィーに付し、*n*-ヘキサン-酢酸エチルなどの有機溶媒で溶出することで単離精製することができる。

第4工程：

第4工程は、式[VIII]で表される化合物の1位アルコキシを臭化水素-酢酸溶液で処理してプロモ化し、活性化したBで表される塩基とグリコシル化反応に付して保護基を有する化合物を得、保護基を除去後、所望により糖部5'位をリン酸化することで式[I]で表される9-(2-デオキシ-2-フルオロ-4-チオ-β-D-アラビノフラノシル)プリン誘導体を得る工程である。

第4工程



(式中、 R_6 、 R_7 、 R_8 、 B は前記と同意義。また、 R は水素原子またはリン酸残基を示す。)

式[VIII]化合物の1位アルコキシ基のブロム化は、式[VIII]化合物1モルに対して0.1～10モル程度の臭化水素を含有する臭化水素-酢酸中、さらに塩化メチレン、クロロホルム、ジクロロエタンなどとの混合溶媒中、 $-50 \sim 70^\circ\text{C}$ で処理することにより実施できる。

また、上記ブロム化反応で進行が不十分の場合には、加酢酸分解により1-アセトキシ体とし、さらに上記ブロム化反応を実施すればよい。式[VIII]化合物の加酢酸分解は、硫酸などの鉱酸存在下、式[VIII]化合物1モルに対して1モル～大過剰の酢酸、無水酢酸の混合物中、 $-20 \sim 100^\circ\text{C}$ 、好ましくは $0 \sim 50^\circ\text{C}$ で処理することにより実施される。

グリコシル化反応は、アルゴンまたは窒素などの不活性ガス気流下、溶媒として塩化メチレン、クロロホルム、ジクロロエタン、アセトニトリル、ジメチルホルムアミドなどを用い、式[VIII]化合物1モルに対して活性化した塩基(シリル化した塩基、または塩基の金属もしくはアルキルアンモニウム塩)1～10モル、および必要に応じてトリメチルシリルトリフルオロメタンスルホネート、四塩化すず、四塩化チタン、塩化亜鉛、三フッ化ホウ素などのルイス酸0.1～10モルを用い、 $-50 \sim 100^\circ\text{C}$ で反応させることにより実施できる。

また、上記以外にも、塩化メチレン、クロロホルム、ジクロロエタン、アセト

ニトリルなどの有機溶媒中もしくは溶媒非存在下、シリル化した塩基と必要に応じてヨウ化ナトリウムなどの触媒存在下、室温～200℃で処理することによりグリコシル化反応を行うことも可能である。

保護基の除去は、使用した保護基に応じた酸性加水分解、アルカリ性加水分解、フッ化物処理、接触還元などの通常の処理を適宜選択して行なえばよい。特に、ベンジル系保護基の場合、その脱保護は塩化メチレン中アルゴンまたは窒素などの不活性ガス気流下、-100℃～室温において三塩化ホウ素または三臭化ホウ素を用いる方法が望ましい。

また、式〔I〕中、Rがリン酸残基である化合物を合成する場合、上述の脱保護終了後、オキシ塩化リン、テトラクロロピロリン酸、 β -シアノエチルリン酸とDCCなどの通常のヌクレオシド5'位の選択的リン酸化反応に使用するリン酸化剤と反応させ、常法により遊離酸型または塩型の目的化合物を得ることができる。

このようにして合成される本発明の化合物は、一般のヌクレオシド、ヌクレオチドの単離精製に使用されている方法を適宜組み合わせて分離精製することができる。たとえば、ヌクレオシド体（式〔I〕のRが水素原子）の場合には溶媒留去後、エタノール等の適当な溶媒から結晶化すればよく、必要に応じ塩型として得ることもできる。ヌクレオチド体（式〔I〕のRがリン酸残基）の場合にはイオン交換カラムクロマトグラフィー、活性炭などの吸着カラムクロマトグラフィーなどにより精製し、凍結乾燥または結晶化により遊離酸型を得ることができ、必要に応じて塩型として得ることもできる。

（3）本発明の化合物の用途

本発明の化合物は、後述の試験例に示すように優れた抗ウイルス作用を有することから、これらを有効成分とする本発明の組成物はウイルス感染の治療に有用である。対象のウイルスとしては、たとえばヘルペスウイルス科に属する単純へ

ルペスウイルス1型(HSV-1)、単純ヘルペスウイルス2型(HSV-2)、ヒトサイトメガロウイルス(HCMV)、水痘帯状疱疹ウイルス(VZV)などを挙げることができる。

本発明の化合物の投与量は、患者の年齢、体重、疾病、患者の重篤度、薬物による許容性、投与方法などにより異なり、これらの条件を総合した上で適宜決定されるものであるが、通常1日当たり0.001~1000mg/kg体重、好ましくは0.01~100mg/kg体重の範囲内から選ばれ、一回または複数回に分けて投与される。

投与方法は、経口、非経口、経腸、局所投与などのいずれの経路によっても投与することができる。

本発明の化合物の製剤化に際しては、通常使用される製剤用担体、賦形剤、その他の添加剤を使用することができる。担体としては、乳糖、カオリン、ショ糖、結晶セルロース、コーンスターチ、タルク、寒天、ペクチン、ステアリン酸、ステアリン酸マグネシウム、レシチン、塩化ナトリウムなどの固体状担体、グリセリン、落花生油、ポリビニルピロリドン、オリーブ油、エタノール、ベンジルアルコール、プロピレングリコール、水などの液体状担体を例示することができる。

剤型としては任意の形態を採ることができ、たとえば固体状担体を使用する場合には錠剤、散剤、顆粒剤、カプセル化剤、座剤、トローチ剤などを、液体状担体を使用する場合にはシロップ、乳液、軟ゼラチンカプセル、クリーム、ゲル、ペースト、スプレー、注射などをそれぞれ例示することができる。

実施例

以下、本発明を合成例、試験例、製剤例などをあげて具体的に説明するが、本発明はこれらによって何等限定されるものではない。

合成例 1

9-(2-デオキシ-2-フルオロ-4-チオ-β-D-アラビノフラノシル)
アデニン〔式〔I〕, B=アデニン, R=H〕の合成

(1) 1, 4-アンヒドロ-5-O-t-ブチルジフェニルシリル-3-O-
ベンジル-2-デオキシ-2-フルオロ-4-チオ-D-アラビトール〔式
〔I I I〕, R₁=Bn, R₂=TBDPS〕の合成

1, 4-アンヒドロ-3-O-ベンジル-4-チオ-D-アラビトール〔式〔I I〕, R₁=Bn〕37.7gとイミダゾール11.3gをDMF 400mlに溶解し、氷冷下、t-ブチルジフェニルシリルクロライド(TBDPSCI) 42.9mlを加え、アルゴン気流下、0℃で一晩攪拌した。水を加えしばらく室温で攪拌した後、溶媒を留去、残渣を酢酸エチル-水で分配し、有機層を更に水で洗浄後、乾燥した。溶媒を濃縮し、残渣をシリカゲルカラムクロマトにより精製し、2~10%酢酸エチル-n-ヘキサンにより溶出した部分を濃縮し、5-シリル体 53.4g (収率71%)を得た。

得られた5-シリル体 5.06gを塩化メチレン25mlに溶解し、この溶液にアルゴン気流下、-78℃にてジエチルアミノサルファートリフルオライド(DAST) 2.26mlを含む塩化メチレン溶液25mlを滴下し、-78℃3時間攪拌した。反応を飽和炭酸水素ナトリウム水溶液を加えて停止した後、クロロホルムにより抽出し、有機層を無水硫酸ナトリウムで乾燥した。溶媒を留去した後、残渣をシリカゲルカラムクロマトにより精製し、2~4%酢酸エチル-n-ヘキサンにより溶出した部分を濃縮し、目的物2.78g (収率55%)を得た。

¹H-NMR (CDCl₃) δ 7.71-7.63 (4H, m, C₆H₅),
 7.71-7.63 (11H, m, C₆H₅), 5.18 (1H, dq, H-2,
 J=3.5, 50.5 Hz), 4.64 (1H, d, C₆H₅CH₂,

$J = 12.0 \text{ Hz}$), 4.60 (1H, d, $\text{C}_6\text{H}_5\text{CH}_2$, $J = 12.0 \text{ Hz}$),
 4.35 (1H, dt, H-3, $J = 2.9, 11.2 \text{ Hz}$), 3.76 (1H,
t, H-5a, $J = 9.5 \text{ Hz}$), 3.66 (1H, ddd, H-5b,
 $J = 2.0, 6.1, 10.5 \text{ Hz}$), $3.57-3.53$ (1H, m, H-4)
, 3.19 (1H, ddd, H-1a, $J = 4.4, 12.2, 30.3 \text{ Hz}$),
 3.06 (1H, ddd, H-1b, $J = 3.4, 12.2, 18.1 \text{ Hz}$),
 1.05 (9H, s, tBu)。

(2) 1-O-アセチル-5-O-t-ブチルジフェニルシリル-3-O-ベン
ジル-2-デオキシ-2-フルオロ-4-チオ-D-アラビノース [式 [IV]
, $R_1 = \text{Bn}$, $R_2 = \text{TBDPS}$, $R_3 = \text{Ac}$] の合成

1, 4-アンヒドロ-5-O-t-ブチルジフェニルシリル-3-O-ベンジ
ル-2-デオキシ-2-フルオロ-4-チオ-D-アラビトール 2.58 g を塩
化メチレン 15 ml に溶解し、アルゴン気流下、 -78°C に冷却し、80% m-
クロロ過安息香酸 1.15 g を溶解した塩化メチレン溶液を滴下した。30分間
攪拌した後、飽和炭酸水素ナトリウム溶液を加えて反応を止め、室温に戻しクロ
ロホルムで抽出、有機層を乾燥した。溶媒を留去し、残渣を無水酢酸 30 ml に
溶解し、アルゴン気流下、2時間 110°C に保った。室温にまで冷却した後、減
圧下溶媒を留去した。残渣を酢酸エチルに溶解し、水、飽和炭酸水素ナトリウム
水溶液、飽和食塩水で分配し、無水硫酸ナトリウムで乾燥した。減圧下、溶液を
濃縮し、残渣をシリカゲルカラムクロマトにより精製し、5~10% 酢酸エチル
-n-ヘキサンにより溶出した部分を濃縮し、目的物 1.57 g (収率 54%)
を得た。

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ $7.68-7.62$ (4H, m, C_6H_5),
 $7.46-7.25$ (11H, m, C_6H_5), 6.06 (1H, d, H-1,
 $J = 4.4 \text{ Hz}$), 5.11 (1H, ddd, H-2, $J = 4.4, 8.3,$

51.0 Hz), 4.78 (1H, d, $C_6H_5CH_2$, $J=11.7$ Hz), 4.60 (1H, d, $C_6H_5CH_2$, $J=11.7$ Hz), 4.38 (1H, ddd, H-3, $J=7.3, 8.3, 11.7$ Hz), 3.81 (1H, dd, H-5a, $J=4.4, 10.5$ Hz), 3.74 (1H, dd, H-5b, $J=5.9, 10.5$ Hz), 3.34 (1H, ddd, H-4, $J=4.4, 5.9, 7.3$ Hz), 2.05 (3H, s, Ac), 1.07 (9H, s, tBu)。

(3) 9-(2-デオキシ-2-フルオロ-4-チオ-β-D-アラビノフラノシル) アデニン [式 [I], B=アデニン, R=H] の合成

1-O-アセチル-5-O-t-ブチルジフェニルシリル-3-O-ベンジル-2-デオキシ-2-フルオロ-4-チオ-D-アラビノース 1.60 g をモレキュラーシーブス 4A (2.70 g) 存在下、アセトニトリル 26 ml に溶解し、この溶液にアデニン 0.77 g およびトリメチルシリルトリフルオロメタンスルホネート (TMSOTf) 2.20 ml を加え、0℃で30分間攪拌した。飽和炭酸水素ナトリウム水溶液を加え、不溶物をろ過し、クロロホルムで2回抽出し、有機層を乾燥した。ろ液を減圧下濃縮し、残渣をシリカゲルカラムクロマトにより精製し、1%メタノール-クロロホルムで溶出した部分を集め、濃縮し、保護された目的物 0.44 g (収率 23%) を得た。

保護された目的物 290 mg を塩化メチレン 9 ml に溶解し、これにアルゴン気流下 -78℃において 1M トリクロロボラン 2.40 ml を滴下し、0℃に昇温して 30分間攪拌した。-78℃でメタノール 2.5 ml を加え、更に 30分間攪拌し、室温に戻して飽和炭酸水素ナトリウム水溶液を加えた。溶媒を留去して残渣をメタノールで3回共沸した後、残渣を DMF 10 ml に溶解した。フッ化アンモニウム 320 mg を加え、室温で一晩攪拌した。溶媒を留去し、残渣をシリカゲルカラムクロマトにより精製、更に ODS 逆相カラムクロマトにより精

製し、標記化合物 28mg (収率 21%) を得た。

$^1\text{H-NMR}$ ($\text{DMSO}-d_6$) δ 8.50 (1H, s, 8-H), 8.14 (1H, s, 2-H), 7.31 (2H, brs, NH_2), 6.23 (1H, t, 1'-H, $J=5.9\text{Hz}$), 5.96 (1H, d, 3'-OH, $J=5.9\text{Hz}$), 5.35 (1H, t, 5'-OH, $J=5.4\text{Hz}$), 5.13 (1H, ddd, 2'-H, $J=5.9, 7.8$ and 50.8Hz), 4.46-4.42 (1H, m, 3'-H), 3.83-3.75 (2H, m, 5'-H), 3.28-3.24 (1H, m, 4'-H)。

合成例 2

9-(2-デオキシ-2-フルオロ-4-チオ- β -D-アラビノフラノシル)-2,6-ジアミノプリン [式 [I], B=2, 6-ジアミノプリン, R=H]

の合成

アデニンの代わりに 2,6-ジアミノプリンを用いて、上記合成例 1 の (3) と同様にして標記化合物を合成した。

$^1\text{H-NMR}$ ($\text{DMSO}-d_6$) δ 8.04 (1H, s, 8-H), 6.75 (2H, brs, NH_2), 6.06 (1H, dd, 1'-H, $J=5.9$ and 9.3Hz), 5.97 (1H, d, 3'-OH, $J=5.4\text{Hz}$), 5.87 (2H, brs, NH_2), 5.32 (1H, brs, 5'-OH), 5.07 (1H, dt, 2'-H, $J=5.9$ and 49.8Hz), 4.45-4.41 (1H, m, 3'-H), 3.81-3.69 (2H, m, 5'-H), 3.28-3.24 (1H, m, 4'-H)

合成例 3

9-(2-デオキシ-2-フルオロ-4-チオ- β -D-アラビノフラノシル)

グアニン〔式〔I〕, B=グアニン, R=H〕の合成

合成例2で得られた精製前のアノマー混合物、9-(2-デオキシ-2-フルオロ-4-チオ-D-アラビノフラノシル)-2,6-ジアミノプリン($\beta/\alpha=1.55$) 114mgをトリス塩酸緩衝液(pH=7.0) 25mlに懸濁し、アデノシンデアミナーゼ 0.43ml (100units)を加え室温で6時間攪拌した。反応液をODS逆相カラムクロマトにより精製し、標記化合物48mg (収率48%)を得た。

$^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6) δ 10.64 (1H, brs, NH), 8.08 (1H, s, 8-H), 6.52 (2H, brs, NH_2), 5.99-5.96 (2H, m, 1'-H and 3'-OH), 5.32 (1H, t, 5'-OH, $J=5.4\text{ Hz}$), 5.07 (1H, ddd, 2'-H, $J=5.9, 7.3$ and 50.8 Hz), 4.39-4.35 (1H, m, 3'-H), 3.80-3.68 (2H, m, 5'-H), 3.26-3.21 (1H, m, 4'-H)

合成例4

9-(2-デオキシ-2-フルオロ-4-チオ- β -D-アラビノフラノシル)-2-クロロアデニン〔式〔I〕, B=2-クロロアデニン, R=H〕の合成

1-O-アセチル-5-O-t-ブチルジフェニルシリル-3-O-ベンジル-2-デオキシ-2-フルオロ-4-チオ-D-アラビノース 440mgをモレキュラーシーブス4A (730mg) 存在下、アセトニトリル6mlに溶解し、この溶液に2,6-ジクロロプリン304mgおよびトリメチルシリルトリフルオロメタンスルホネート(TMSOTf) 0.56mlを加え、室温で1時間、更に60℃で5時間攪拌した。飽和炭酸水素ナトリウム水溶液を加え、不溶物をろ過し、クロロホルムで2回抽出し、有機層を乾燥した。ろ液を減圧下濃縮し、

残渣をシリカゲルカラムクロマトにより精製し、10%酢酸エチル-*n*-ヘキサンで溶出した部分を集め、濃縮し、9-(3-O-ベンジル-5-O-*t*-ブチルジフェニルシリル-2-デオキシ-2-フルオロ-4-チオ-D-アラビノフラノシル)-2,6-ジクロロプリン 370mg (収率68%)を得た。

得られた9-(3-O-ベンジル-5-O-*t*-ブチルジフェニルシリル-2-デオキシ-2-フルオロ-4-チオ-D-アラビノフラノシル)-2,6-ジクロロプリン 360mgを塩化メチレン11mlに溶解し、これにアルゴン気流下-78℃において1Mトリクロロボラン2.70mlを滴下し、室温に昇温して30分間攪拌した。-78℃でメタノール1.0mlを加え、更に30分間攪拌し、室温に戻して飽和炭酸水素ナトリウム水溶液を加えた。溶媒を留去し、残渣をメタノールで3回共沸した後、残渣をシリカゲルカラムクロマトにより α アノマーと β アノマーを分離し、得られた β アノマー115mgを飽和アンモニア-エタノール溶液20mlに溶解し、封管中80℃で7時間反応した。溶媒を留去し、残渣をDMF 5mlに溶解し、フッ化アンモニウム137mgを加え、室温で一晩攪拌した。溶媒を留去し、残渣をシリカゲルカラムクロマトにより精製し、標記化合物51mg (収率31%)を得た。

$^1\text{H-NMR}$ ($\text{DMSO}-d_6$) δ 8.55 (1H, s, 8-H), 7.86 (2H, br s, NH_2), 6.14 (1H, t, 1'-H, $J=5.9\text{ Hz}$), 5.97 (1H, d, 3'-OH, $J=5.9\text{ Hz}$), 5.35 (1H, t, 5'-OH, $J=4.9\text{ Hz}$), 5.16 (1H, ddd, 2'-H, $J=5.9, 7.8$ and 50.3 Hz), 4.43-4.39 (1H, m, 3'-H), 3.85-3.78 (2H, m, 5'-H), 3.27-3.23 (1H, m, 4'-H)。

合成例5

9-(2-デオキシ-2-フルオロ-4-チオ-β-D-アラビノフラノシル)-2-フルオロアデニン〔式〔I〕, B=2-フルオロアデニン, R=H〕の合成

1-O-アセチル-5-O-t-ブチルジフェニルシリル-3-O-ベンジル-2-デオキシ-2-フルオロ-4-チオ-D-アラビノース 2.01gをモレキュラーシーブス4A(3.30g)存在下、アセトニトリル27mlに溶解し、この溶液に2,6-ジアミノプリン1.07gおよびトリメチルシリルトリフルオロメタンスルホネート(TMSOTf)2.70mlを加え、0℃で30分間、更に室温で2時間攪拌した。飽和炭酸水素ナトリウム水溶液を加え、不溶物をろ過し、クロロホルムで2回抽出し、有機層を乾燥した。ろ液を減圧下濃縮し、残渣をシリカゲルカラムクロマトにより精製し、2%メタノール-クロロホルムで溶出した部分を集め、濃縮し、9-(3-O-ベンジル-5-O-t-ブチルジフェニルシリル-2-デオキシ-2-フルオロ-4-チオ-D-アラビノフラノシル)-2,6-ジアミノプリン 687mgを得た。これをDMF 24mlに溶解し、フッ化アンモニウム756mgを加えて室温で一晩攪拌した。溶媒を留去し、残渣をシリカゲルカラムクロマトに付し、得られた結晶をアセトニトリル21mlに懸濁した。無水酢酸0.19mlおよびトリエチルアミン0.30mlを加え、室温で一晩攪拌した。反応液にメタノール5.0mlを加え30分間攪拌した後、溶媒を留去し、残渣をシリカゲルカラムクロマトにより精製して9-(5-O-アセチル-3-O-ベンジル-2-デオキシ-2-フルオロ-4-チオ-D-アラビノフラノシル)-2,6-ジアミノプリン 393mgを得た。得られた9-(5-O-アセチル-3-O-ベンジル-2-デオキシ-2-フルオロ-4-チオ-D-アラビノフラノシル)-2,6-ジアミノプリンを60%フッ化水素-ピリジン溶液4.30mlに溶解し、0℃でt-ブチルニ

トライト 0.13 ml を滴下した。30 分間攪拌した後、反応液に氷水を加えた。クロロホルムで 2 回抽出し、有機層を乾燥し、溶媒を留去した。残渣をシリカゲルカラムクロマトにより精製し、2% メタノール-クロロホルムで溶出した部分を集め、濃縮し、保護された目的物 276 mg (収率 14%) を得た。保護された目的物 206 mg をメタノール 7.0 ml に懸濁し、濃アンモニア水 5.0 ml を加えて室温で 4 時間攪拌した。減圧下で溶媒を留去し、残渣を ODS 逆相カラムクロマトにより α アノマーと β アノマーを分離し、 β アノマー 84 mg を得た。これを塩化メチレン 4.0 ml に懸濁し、クロロトリメチルシラン 0.90 ml 加え、室温で 10 分間攪拌した。これにアルゴン気流下 -78°C において 1 M トリクロロボラン 1.03 ml を滴下し、室温に昇温して 1 時間攪拌した。 -78°C でメタノール 2.0 ml を加え、更に 30 分間攪拌し、室温に戻して濃アンモニア水を加えた。溶媒を留去し、残渣をシリカゲルカラムクロマトにより精製し、20% メタノール-クロロホルムで溶出した部分を集め、濃縮し、標記化合物 36 mg (収率 26%) を得た。

$^1\text{H-NMR}$ ($\text{DMSO}-d_6$) δ 8.51 (1H, s, 8-H), 7.87 (2H, brs, NH_2), 6.10 (1H, t, 1'-H, $J=5.9\text{ Hz}$), 5.97 (1H, brs, 3'-OH), 5.35 (1H, brt, 5'-OH, $J=4.9\text{ Hz}$), 5.15 (1H, ddd, 2'-H, $J=5.9$, 7.8 and 50.3 Hz), 4.44-4.37 (1H, m, 3'-H), 3.84-3.77 (2H, m, 5'-H), 3.27-3.23 (1H, m, 4'-H)。

合成例 6

9-(2-デオキシ-2-フルオロ-4-チオ- β -D-アラビノフラノシル)-2,6-ジクロロプリン [式 [I], B=2, 6-ジクロロプリン, R=H]

の合成

(1) 1, 2 : 5, 6-ジ-*O*-イソプロピリデン-3-デオキシ-3-フル
オロ- α -D-グルコフラノース [式 [VI]] の合成

1, 2 : 5, 6-ジ-*O*-イソプロピリデン- α -D-アロフラノース [式V]
20.0 g (76.84 mmol) を CH_2Cl_2 240 ml に溶解し、0℃で
 SO_2Cl_2 12.35 ml (153.68 mmol) を滴下し15分間攪拌後、
イミダゾール52.3 g (768.40 mmol) を氷冷下で少量ずつ加え、室
温で2~3時間攪拌した。sat. NaHCO_3 で反応停止後、 CHCl_3 で抽出
し、有機層を Na_2SO_4 で乾燥させ溶媒を留去した。残渣を2-メトキシエタノ
ール240 ml に溶解し、フッ化カリウム (スプレードライ品) 44.64 g
(768.40 mmol) を加えて130℃で4~6時間還流した。放冷後、溶
媒を留去し、残渣を酢酸エチルと水で分配した。有機層を $\text{H}_2\text{O} \times 2$, brin
e で洗浄し、 Na_2SO_4 乾燥後、減圧乾固し、シリカゲルカラム精製 (400 cc,
5~20% AcOEt (Hex 中)) を行い、目的物を12.98 g (49.
49 mmol)、収率64%で得た。

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ ppm 5.95 (d, 1H, H-1,
 $J_{1,2}=3.9\text{ Hz}$), 5.01 (dd, 1H, H-3, $J_{3,4}=2.2\text{ Hz}$,
 $J_{3,\text{F}}=49.8\text{ Hz}$), 4.70 (dd, 1H, H-2, $J_{1,2}=3.9\text{ Hz}$,
 $J_{2,\text{F}}=10.7\text{ Hz}$), 4.29 (1H, ddd, H-5, $J_{4,5}=8.3\text{ Hz}$,
 $J_{5,6a}=5.9\text{ Hz}$, $J_{5,6b}=4.9\text{ Hz}$), 4.12 (dd, 1H, H-6a,
 $J_{5,6a}=5.9\text{ Hz}$, $J_{6a,b}=8.8\text{ Hz}$), 4.11 (ddd, 1H, H-4,
 $J_{3,4}=2.2\text{ Hz}$, $J_{4,5}=8.3\text{ Hz}$, $J_{4,\text{F}}=29.0\text{ Hz}$), 4.03
(dd, 1H, H-6b, $J_{5,6b}=4.9\text{ Hz}$, $J_{6a,b}=8.8\text{ Hz}$),
1.50, 1.45, 1.37, 1.33 (s, each 3H, ipr)。

(2) 5, 6-ジ-*S*, *O*-アセチル-1, 2-*O*-イソプロピリデン-5-

チオ- α -D-グルコフラノース〔式〔VII〕, $R_4=R_5=Ac$ 〕の合成

1, 2 : 5, 6-ジ-*O*-イソプロピリデン-3-デオキシ-3-フルオロ- α -D-グルコフラノース 10.9 g (41.56 mmol) を THF 40 ml, 2N HCl 40 ml に溶解し、室温で攪拌した。反応終了後、 $NaHCO_3$ で中和し、不溶物をろ去した。ろ液を $CHCl_3$ で抽出し、有機層を brine で洗浄し、 Na_2SO_4 で乾燥後溶媒を留去した後、シリカゲルカラム精製 (320 cc, 3~6% MeOH ($CHCl_3$ 中)) を行い、1, 2-*O*-イソプロピリデン-3-デオキシ-3-フルオロ- α -D-グルコフラノース 8.02 g (36.09 mmol) を得た。得られた 1, 2-*O*-イソプロピリデン-3-デオキシ-3-フルオロ- α -D-グルコフラノースは CH_2Cl_2 120 ml に溶解し、ピリジン 3.20 ml, DMAP 44 mg を加え、 $-5^\circ C$ で BzCl 4.61 ml (39.68 mmol) の CH_2Cl_2 50 ml を滴下した。 $-5^\circ C$ で 5 時間反応を行い、反応終了確認後、MeOH で 1 時間攪拌し、反応を停止した。 $CHCl_3$ と H_2O で分配し、有機層を 0.5N HCl \times 2, sat. $NaHCO_3$ \times 2, brine で洗浄し、 Na_2SO_4 で乾燥した。溶媒を留去し、シリカゲルカラム精製 (320 cc, 10~25% AcOEt (Hex 中)) を行い、6-*O*-ベンゾイル-1, 2-*O*-イソプロピリデン-3-デオキシ-3-フルオロ- α -D-グルコフラノースを 9.33 g (28.59 mmol)、収率 79% で得た。

1H -NMR ($CDCl_3$) δ ppm 8.09-8.05 (m, 2H, Bz), 7.60-7.42 (m, 3H, Bz), 5.99 (d, 1H, H-1, $J_{1,2}=3.9$ Hz), 5.14 (dd, 1H, H-3, $J_{3,4}=2.0$ Hz, $J_{3,F}=49.8$ Hz), 4.74-4.70 (m, 2H, H-2, H-6a), 4.46 (dd, 1H, H-6b, $J_{5,6b}=5.9$ Hz, $J_{6a,b}=12.2$ Hz), 4.27-4.18 (m, 2H, H-4, H-5), 2.83 (br, 1H,

5-OH), 1.47, 1.33 (s, each 3H, ipr)。

6-O-ベンゾイル-1, 2-O-イソプロピリデン-3-デオキシ-3-フルオロ- α -D-グルコフラノース 9.33g (28.59mmol) をピリジン 80ml に溶解し、MsCl 3.32ml (42.88mmol) を 0°C で滴下し、室温で一晩撹拌した。0°C で H₂O を加えて反応を停止した後、酢酸エチルで抽出し、有機層を sat. NaHCO₃, brine で洗浄し、Na₂SO₄ で乾燥した。溶媒留去し、残渣に MeOH 80ml を加え、28% NaOCH₃ 7ml (34.31mmol) を加えて室温で 45 分間撹拌した。酢酸エチルと水で分配を行い、有機層を Na₂SO₄ で乾燥後、シリカゲルカラム精製 (220cc AcOEt:Hex = 5:1 ~ 1:1) を行い、5, 6-アンヒドロ-1, 2-O-イソプロピリデン-3-デオキシ-3-フルオロ- α -L-イドフラノース 3.82g (65%)、及び 1, 2-O-イソプロピリデン-3-デオキシ-3-フルオロ-5-O-メタンシルホニル- α -D-グルコフラノース 1.404g (16%) を得た。1, 2-O-イソプロピリデン-3-デオキシ-3-フルオロ-5-O-メタンシルホニル- α -D-グルコフラノースは THF 10ml に溶解し、60% NaH 206mg (5.14mmol) で処理し、5, 6-アンヒドロ-1, 2-O-イソプロピリデン-3-デオキシ-3-フルオロ- α -L-イドフラノースに変換させた。

¹H-NMR (CDCl₃) δ ppm 6.04 (d, 1H, H-1, J_{1,2} = 3.9 Hz), 4.96 (dd, 1H, H-3, J_{3,4} = 2.4 Hz, J_{3,F} = 50.3 Hz), 4.71 (dd, 1H, H-2, J_{1,2} = 3.9 Hz, J_{2,F} = 11.2 Hz), 3.89 (ddd, 1H, H-4, J_{3,4} = 2.4 Hz, J_{4,5} = 5.9, J_{4,F} = 30.3 Hz), 3.22 (1H, ddd, H-5, J_{4,5} = 5.9 Hz, J_{5,6a} = 4.4 Hz, J_{5,6b} = 2.9 Hz), 2.88 (t, 1H, H-6a, J = 4.4 Hz), 2.71 (dd, 1H, H-6b,

$J_{5,6b} = 2.9 \text{ Hz}$, $J_{6a,b} = 4.9 \text{ Hz}$, 1.47, 1.33
(s, each 3H, ipr)。

5, 6-アンヒドロ-1, 2-O-イソプロピリデン-3-デオキシ-3-フルオロ- α -L-イドフラノース 3.82 g (18.7 mmol) を MeOH 90 ml に溶解し、チオ尿素 1.42 g (18.7 mmol) を加えて 7 時間還流した。放冷後、溶媒を留去し、残渣を H_2O と CHCl_3 で分配し、有機層を Na_2SO_4 で乾燥した。溶媒留去し、5, 6-アンヒドロ-1, 2-O-イソプロピリデン-3-デオキシ-3-フルオロ-5-チオ- α -D-グルコフラノースの残渣 (3.99 g) を得た。また、同様の方法により、1, 2-O-イソプロピリデン-3-デオキシ-3-フルオロ-5-O-メタンシルホニル- α -D-グルコフラノースの NaH 処理により得られた 5, 6-アンヒドロ-1, 2-O-イソプロピリデン-3-デオキシ-3-フルオロ- α -L-イドフラノース (未精製) より、5, 6-アンヒドロ-1, 2-O-イソプロピリデン-3-デオキシ-3-フルオロ-5-チオ- α -D-グルコフラノースの残渣 (0.87 g) を得た。合わせた残渣を $\text{AcOH} : \text{Ac}_2\text{O} = 15 \text{ ml} : 75 \text{ ml}$ に溶解し、酢酸カリウム 3.46 g (35.29 mmol) を加えて 20 時間還流した。放冷後溶媒を留去し、酢酸エチルに懸濁し、不溶物をろ去した。ろ液を $\text{H}_2\text{O} \times 2$, sat. NaHCO_3 , brine で洗浄し、 Na_2SO_4 乾燥後、減圧乾固し、シリカゲルカラム精製 (220 cc, 15~20% AcOEt (Hex 中)) を行い、5, 6-ジ-S, O-アセチル-1, 2-O-イソプロピリデン-5-チオ- α -D-グルコフラノース 5.2 g (16.13 mmol) を収率 73% で得た。

融点: 88.9–90.4°C

元素分析値: $\text{C}_{13}\text{H}_{19}\text{O}_6\text{SF}$

計算値 C : 48.44, H : 5.94

分析値 C : 48.49, H : 6.00

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ ppm 5.98 (d, 1H, H-1, $J_{1,2}=3.9\text{ Hz}$), 4.96 (dd, 1H, H-3, $J_{3,F}=49.6\text{ Hz}$), 4.68 (dd, 1H, H-2, $J_{1,2}=3.9\text{ Hz}$), 4.46-4.37 (m, 3H, H-6a, H-6b, H-4), 4.11 (dt, 1H, H-5), 2.36 (s, 3H, Ac), 2.06 (s, 3H, Ac), 1.49 (s, 3H, ipr), 1.33 (s, 3H, ipr)。

(3) メチル 3, 5-ジ-*O*-ベンゾイル-2-デオキシ-2-フルオロ-4-チオ-D-アラビノフラノース [式 [VIII]], $R_6=R_7=\text{Bz}$, $R_8=\text{Me}$] の合成

5, 6-ジ-*S*, *O*-アセチル-1, 2-*O*-イソプロピリデン-5-チオ- α -D-グルコフラノース 100mg (0.31mmol) を90%トリフルオロ酢酸 (1.5ml) に溶解し、0℃で4時間攪拌した。酢酸エチルで希釈し、有機層を $\text{H}_2\text{O} \times 3$, sat. $\text{NaHCO}_3 \times 2$, brineで洗浄し、 Na_2SO_4 乾燥後、溶媒留去した。この残渣を MeOH 0.8mlに溶解し、 NaIO_4 58.4mg (0.27mmol) の水溶液0.8mlを室温に加え、反応終了後グリセリンを加えて30分攪拌し、反応を停止した。不溶物をろ去し、ろ液を減圧乾固後、 $\text{H}_2\text{O} \times 3$ / CHCl_3 で分配し、有機層をbrineで洗浄し、 Na_2SO_4 で乾燥した。溶媒留去し、残渣を5% HCl / MeOH 2mlに溶解し、4時間還流した。 NaHCO_3 で中和後、不溶物をろ去、溶媒留去をした。残渣をピリジン2mlに溶解し、 BzCl 150 μl (1.29mmol) を0℃に加え、室温で2.5時間攪拌した。sat. NaHCO_3 で反応を停止後、 CHCl_3 で抽出し、有機層を0.5N HCl , sat. NaHCO_3 , brineで洗浄し、 Na_2SO_4 で乾燥した。減圧乾固し、フラッシュシリカゲ

ルカラム精製 (15 cc, 5% AcOEt (Hex 中)) を行い、 α 及び β アノマーをそれぞれ 28 mg、24.5 mg、更にアノマーの混合物として 13.1 mg (total 54%) の目的物を得た。

(α アノマー)

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ ppm 8.03–7.99 (4H, m, Bz), 7.60–7.35 (6H, m, Bz), 5.77 (1H, dt, H-1), 5.28 (1H, dd, H-2, $J_{2,\text{F}}=48.3\text{ Hz}$), 5.24 (1H, d, H-3, $J_{2,3}=2.0\text{ Hz}$), 4.61–4.47 (2H, m, H-5a, 5b), 4.05 (1H, dt, H-4), 3.42 (3H, s, OMe)。

(β アノマー)

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ ppm 8.04–8.02 (4H, m, Bz), 7.59–7.31 (6H, m, Bz), 6.09 (1H, dt, H-1, $J_{1,2}=3.9\text{ Hz}$), 5.35 (1H, ddd, H-2, $J_{2,\text{F}}=51.5\text{ Hz}$), 4.96 (1H, d, H-3), 4.57 (2H, ddd, H-5a, 5b, $J_{5a,b}=11.2\text{ Hz}$, $J_{5a,4}=J_{4,5b}=6.4\text{ Hz}$), 3.69 (1H, dt, H-4, $J_{4,5a}=J_{4,5b}=6.4\text{ Hz}$), 3.43 (3H, s, OMe)。

(4) 9-(2-デオキシ-2-フルオロ-4-チオ- β -D-アラビノフラノシル)-2,6-ジクロロプリン [式 [I], B=2,6-ジクロロプリン, R=H]

メチル 3,5-ジ- O -ベンゾイル-2-デオキシ-2-フルオロ-4-チオ- α -及び- β -D-アラビノフラノース 24.2 mg (0.062 mmol) を $\text{AcOH}:\text{Ac}_2\text{O}=2\text{ ml}:2\text{ ml}$ に溶解し、濃硫酸 0.25 ml を 0°C で加え、室温で 1 時間攪拌した。NaOAc 4.5 g で中和した後、 CH_2Cl_2 と H_2O で分配し、有機層を Na_2SO_4 で乾燥した。溶媒留去後シリカゲルカラム精製 (10 cc, 10% AcOEt (Hex 中)) を行い、23.5 mg

(0.056 mmol)、収率91%で1-O-アセチル-3,5-ジ-O-ベンゾイル-2-デオキシ-2-フルオロ-4-チオ-D-アラビノフラノースを α 、 β アノマーの混合物として得た。

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ ppm 8.06–7.94 (m, 4H, Bz), 7.62–7.30 (m, 6H, Bz), 6.24 (dd, 0.42H, H-1 α , $J_{1,2}=2.0\text{ Hz}$, $J_{1,\text{F}}=14.2\text{ Hz}$), 6.18 (d, 0.58H, H-1 β , $J_{1,2}=4.4\text{ Hz}$), 6.08 (ddd, 0.58H, H-3 β , $J_{3,4}=7.3\text{ Hz}$, $J_{2,3}=9.3\text{ Hz}$, $J_{3,\text{F}}=11.7\text{ Hz}$), 5.85 (dt, 0.42H, H-3 α , $J_{2,3}=J_{3,4}=3.9\text{ Hz}$, $J_{3,\text{F}}=12.2\text{ Hz}$), 5.39 (ddd, 0.42H, H-2 α , $J_{1,2}=2.0\text{ Hz}$, $J_{2,3}=3.9\text{ Hz}$, $J_{2,\text{F}}=47.9\text{ Hz}$), 5.31 (ddd, 0.58H, H-2 β , $J_{1,2}=4.4\text{ Hz}$, $J_{2,3}=9.3\text{ Hz}$, $J_{2,\text{F}}=50.8\text{ Hz}$), 4.69 (dd, 0.58H, H-5 β a, $J_{4,5\text{a}}=6.4\text{ Hz}$, $J_{5\text{a},\text{b}}=11.2\text{ Hz}$), 4.55 (dd, 0.42H, H-5 α a, $J_{4,5\text{a}}=7.8\text{ Hz}$, $J_{5\text{a},\text{b}}=11.7\text{ Hz}$), 4.49 (dd, 0.58H, H-5 β b, $J_{4,5\text{b}}=6.4$, $J_{5\text{a},\text{b}}=11.2\text{ Hz}$), 4.47 (dd, 0.42H, H-5 α b, $J_{4,5\text{b}}=1.5\text{ Hz}$, $J_{5\text{a},\text{b}}=11.7\text{ Hz}$), 4.11 (ddd, 0.42H, H-4 α , $J_{3,4}=4.4\text{ Hz}$, $J_{4,5\text{a}}=7.8\text{ Hz}$, $J_{4,5\text{b}}=1.5\text{ Hz}$), 3.74 (q, 0.58H, H-4 β , $J_{3,4}=J_{4,5\text{a}}=J_{4,5\text{b}}=6.4\text{ Hz}$), 2.12, 2.11 (s, total 3H, Ac)。

1-O-アセチル-3,5-ジ-O-ベンゾイル-2-デオキシ-2-フルオロ-4-チオ-D-アラビノフラノース 150mg (0.358 mmol) を CH_2Cl_2 1.5ml に溶解し、30% HBr 酢酸 0.3ml を加えて室温で

20分間攪拌した。氷水15mlを加えて反応を停止し、 CH_2Cl_2 で抽出した。有機層をsat. NaHCO_3 、氷水で洗浄し、 Na_2SO_4 乾燥した。30℃以下で減圧乾固し、1-ブロモ体をオイルとして得た。

2, 6-ジクロロプリン 23.5mg (0.12mmol) をアセトニトリル 1.0ml に溶解し、60%NaH 5.0mg (0.13mmol) を室温で加え1時間攪拌した。この反応液にブロモ体23.5mg (0.12mmol) のアセトニトリル溶液1.0mlを加え、室温で一晩攪拌し、さらに50℃で一晩加熱攪拌した。反応を停止し、セライトでろ過後、母液を濃縮乾固した。フラッシュシリカゲルカラム (20cc, CHCl_3 :MeOH=10:1) 精製し、標記化合物を α アノマーと β アノマーの混合物として15.3mg (0.03mmol)、収率25%で得た。

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ ppm 8.61 (d, 0.7H, H-8 β , $J=2.9\text{Hz}$), 8.60 (s, 0.3H, H-8 α), 8.10-8.06 (m, 4H, Bz), 7.76-7.41 (m, 6H, Bz), 6.71 (dd, 0.7H, H-1' β , $J_{1',2'}=3.9\text{Hz}$, $J_{1',F}=20.0\text{Hz}$), 6.42 (d, 0.3H, H-1' α , $J_{1',2'}=2.9\text{Hz}$, $J_{1',F}=13.7\text{Hz}$), 6.09 (dt, 0.7H, H-3' β , $J=2.9, 9.3\text{Hz}$), 5.98 (dt, 0.3H, H-3' α , $J=3.4, 12.2\text{Hz}$), 5.76 (dt, 0.3H α , H-2', $J=2.9, 47.4\text{Hz}$), 5.40 (dt, 0.7H, H-2' β , $J=2.9, 49.3\text{Hz}$), 4.79 (d, 1.4H, H-5' β , $J=7.8\text{Hz}$), 4.69 (dd, 0.3H, H-5' α a, $J=7.6, 11.5\text{Hz}$), 4.62 (dd, 0.3H, H-5' α b, $J=6.6, 11.5\text{Hz}$), 4.46-4.42 (m, 0.3H, H-4' α), 4.12 (t, 0.7H, H-4' β , $J=7.4\text{Hz}$)。

α アノマーと β アノマーの分離は合成例5に準じて行なった。

試験例

(方法)

(1) 抗HSV-1活性および抗HSV-2活性

1. ヒト胎児肺由来線維芽細胞を準胎児牛血清（三菱化学）を10%添加したイーグルMEM中で4～5日毎に1：2～4スプリット継代培養する。

2. 親細胞から1：2のスプリットで得た細胞浮遊液を2ml/ウェルの割合で12穴マルチプレートに播き、炭酸ガスインキュベーター内で37℃4日間培養する。

3. 培養液を捨て、50～150PFUのHSV-1 VR-3株またはHSV-2 MS株を含むハンスMEM（250μl）を接種し、37℃で30分間ウイルスを吸着させた後、ウイルス液を捨てる。

4. 被検薬を含む2.5%血清添加イーグルMEM、0.8%メチルセルロース含有培地を加え、炭酸ガスインキュベーター内にて37℃で2～3日間培養する。通常、被検薬は1/2log₁₀段階希釈する。

5. 培養液を捨て、0.5%クリスタルバイオレット液で染色し、透過型実体顕微鏡下で各ウェルのプラーク数を数え、下記の式によりプラーク形成阻害率を求める。

6. プラーク形成阻害率を被検薬の濃度（対数表示）に対してグラフ上にプロットし、得られた用量－プラーク形成阻害曲線から50%阻害を示す被検薬の濃度（ED₅₀）を求める。

$$\text{阻害率 (\%)} = \left(1 - \frac{\text{被検薬含有ウェルのプラーク数}}{\text{被検薬非含有 (対照) ウェルのプラーク数}} \right) \times 100$$

(2) 抗水痘－帯状疱疹ウイルス (VZV) 活性

1. ヒト胎児肺由来線維芽細胞を準胎児牛血清（三菱化学）を10%添加した

イーグルMEM中で4～5日毎に1：2～4スプリット継代培養する。

2. 親細胞から1：2のスプリットで得た細胞浮遊液を2ml／ウエルの割合で12穴マルチプレートに播き、炭酸ガスインキュベーター内で37℃4日間培養する。

3. 培養液を捨て、50～100PFUのVZV Oka株を含む750μlの5%血清添加イーグルMEMを接種し、37℃で1時間ウイルスを吸着させた。

4. ウイルス液を除くことなく、被検薬を含む等量のMEMを加え、炭酸ガスインキュベーター内にて37℃で培養する。通常、被検薬は1／210g₁₀段階希釈する。

5. 4～5日間培養後、培養液を捨て、0.5%クリスタルバイオレット液で染色し、透過型実体顕微鏡下で各ウエルのプラーク数を数え、上記(1)の場合と同じ式によりプラーク形成阻害率を求める。

6. プラーク形成阻害率を被検薬の濃度(対数表示)に対してグラフ上にプロットし、得られた用量-プラーク形成阻害曲線から50%阻害を示す被検薬の濃度(ED₅₀)を求める。

(3) 抗ヒトサイトメガロウイルス(HCMV)活性

1. ヒト胎児肺由来線維芽細胞を準胎児牛血清(三菱化学)を10%添加したイーグルMEM中で4～5日毎に1：2～4スプリット継代培養する。

2. 親細胞から1：2のスプリットで得た細胞浮遊液を0.8ml／ウエルの割合で24穴マルチプレートに播き、炭酸ガスインキュベーター内で37℃4日間培養する。

3. 培養液を捨て、50～100PFUのHCMV AD-169株を含む400μlの5%血清添加イーグルMEMを接種し、37℃で1時間ウイルスを吸着させた。

4. ウイルス液を除くことなく、被検薬を含む等量のMEMを加え、炭酸ガス

インキュベーター内にて37℃で4日間培養する。通常、被検薬は

$1/2 \log_{10}$ 段階希釈する。

5. 同じ濃度の被検薬を含む2.5%血清添加イーグルMEM、0.8%メチルセルロース含有培地に交換し、さらに4～5日間培養する。

6. 培養液を捨て、May-Gruenwald's-Giemsa(×10)で染色し、透過型実体顕微鏡下で各ウェルのプラーク数を数え、上記(1)の場合と同じ式によりプラーク形成阻害率を求める。

7. プラーク形成阻害率を被検薬の濃度(対数表示)に対してグラフ上にプロットし、得られた用量-プラーク形成阻害曲線から50%阻害を示す被検薬の濃度(ED_{50})を求める。

(結果)

試験の結果を下記表1に示す。

表 1

化 合 物	抗ウイルス活性 (ED_{50} , $\mu\text{g/ml}$)			
	HSV-1	HSV-2	VZV	HCMV
合成例1(式I:B=アデニン、R=H)	1.61	3.07	3.04	1.41
合成例2(式I:B=2,6-ジメチルアミン、R=H)	0.0057	0.050	0.101	0.066
合成例3(式I:B=グアニン、R=H)	0.0091	0.063	0.095	0.078
対照例1 アラA	17.1	6.6	1.17	6.5
対照例2 アシクロビル	0.14	0.23	2.72	6.9
対照例3 ガンシクロビル	0.016	0.039	3.1	0.21

製剤例1：錠剤

本発明の化合物	30.0mg
微粉末セルロース	25.0mg
乳糖	39.5mg
スターチ	40.0mg

タルク	5.0mg
ステアリン酸マグネシム	0.5mg

上記組成から常法によって錠剤を調製する。

製剤例2：カプセル剤

本発明の化合物	30.0mg
乳糖	40.0mg
スターチ	15.0mg
タルク	5.0mg

上記組成から常法によってカプセル剤を調製する。

製剤例3：注射剤

本発明の化合物	30.0mg
グルコース	100.0mg

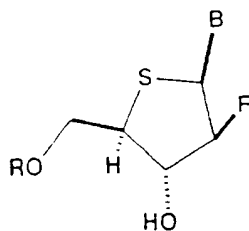
上記組成を注射用精製水に溶解して注射剤を調製する。

産業上の利用可能性

本発明の化合物は、優れた抗ウイルス作用を有し、医薬品としての開発が期待されるものである。また、本発明の製造方法は、安価な物質を原料とし、工程数が少なく、簡単な操作で実施することができる方法であるため、9-(2-デオキシ-2-フルオロ-4-チオ-β-D-アラビノフラノシル)プリン誘導体の製造方法として極めて実用的なものである。

請求の範囲

1. 式 [I] で表される 9-(2-デオキシ-2-フルオロ-4-チオ-β-D-アラビノフラノシル) プリン誘導体:



式 [I]

(式中、Bはプリン、アザプリンおよびデアザプリンからなる群から選択される塩基を示し、それらはハロゲン原子、アルキル基、ハロアルキル基、アルケニル基、ハロアルケニル基、アルキニル基、アミノ基、アルキルアミノ基、水酸基、ヒドロキシアミノ基、アミノキシ基、アルコキシ基、メルカプト基、アルキルメルカプト基、アリール基、アリールオキシ基、シアノ基によって置換されていてよい; また、Rは水素原子またはリン酸残基を示す。)

2. 9-(2-デオキシ-2-フルオロ-4-チオ-β-D-アラビノフラノシル) アデニンである、請求項1記載の化合物。
3. 9-(2-デオキシ-2-フルオロ-4-チオ-β-D-アラビノフラノシル) -2, 6-ジアミノプリンである、請求項1記載の化合物。
4. 2-クロロ-9-(2-デオキシ-2-フルオロ-4-チオ-β-D-アラビノフラノシル) アデニンである、請求項1記載の化合物。
5. 2-フルオロ-9-(2-デオキシ-2-フルオロ-4-チオ-β-D-アラビノフラノシル) アデニンである、請求項1記載の化合物。
6. 9-(2-デオキシ-2-フルオロ-4-チオ-β-D-アラビノフラ

ノシル) グアニンである、請求項1記載の化合物。

7. 請求項1記載の化合物を有効成分として含有する医薬組成物。

8. 抗ウイルス剤として使用する、請求項7記載の医薬組成物。

9. 下記の第1工程～第3工程よりなる、請求項1記載の9-(2-デオキシ-2-フルオロ-4-チオ-β-D-アラビノフラノシル) プリン誘導体の製造方法：

第1工程：

式[I I]で表される化合物の1級水酸基を保護基により保護した後、ジエチルアミノサルファートリフルオライド(DAST)と反応させて式[I I I]で表される化合物を得る工程



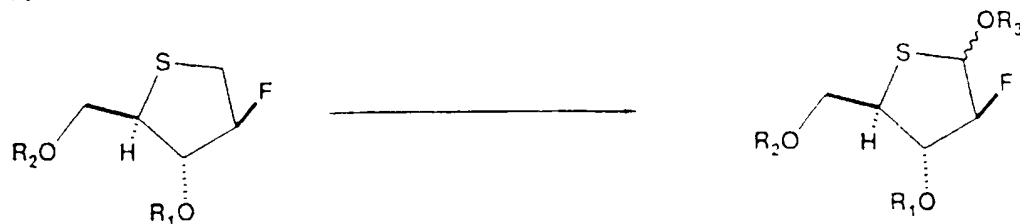
式[I I]

式[I I I]

(式中、 R_1 および R_2 はアルキル基、シリル基またはアシル基を示す)

第2工程：

式[I I I]で表される化合物を酸化剤と反応させてスルホキシドとした後、酸無水物もしくは酸塩化物で処理することでプンメラー(Pummerer)転移反応に付して式[I V]で表される化合物を得る工程



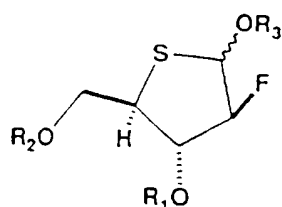
式[I I I]

式[I V]

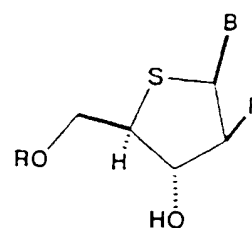
(式中、 R_1 および R_2 は前記と同意義； R_3 はアシル基を示す)

第3工程：

ルイス酸触媒の存在下、式 [I V] で表される化合物と B で表される塩基とをグリコシル化反応に付して保護基を有する化合物を得、保護基を除去後、所望により糖部 5' 位をリン酸化することで式 [I] で表される 9-(2-デオキシ-2-フルオロ-4-チオ-β-D-アラビノフラノシル) プリン誘導体を得る工程



式 [I V]



式 [I]

(式中、 R_1 、 R_2 および R_3 は前記と同意義；B はプリン、アザプリンおよびデアザプリンからなる群から選択される塩基を示し、それらはハロゲン原子、アルキル基、ハロアルキル基、アルケニル基、ハロアルケニル基、アルキニル基、アミノ基、アルキルアミノ基、水酸基、ヒドロキシアミノ基、アミノキシ基、アルコキシ基、メルカプト基、アルキルメルカプト基、アリアル基、アリアルオキシ基、シアノ基によって置換されていてもよい；また、R は水素原子またはリン酸残基を示す。)

10. 下記の第1工程～第4工程よりなる、請求項1記載の化合物の製造方法：

第1工程：

式 [V] で表される化合物の水酸基に脱離基を導入した後、フッ素原子を導入することの可能な求核試薬で処理し、式 [VI] で表される化合物を得る工程

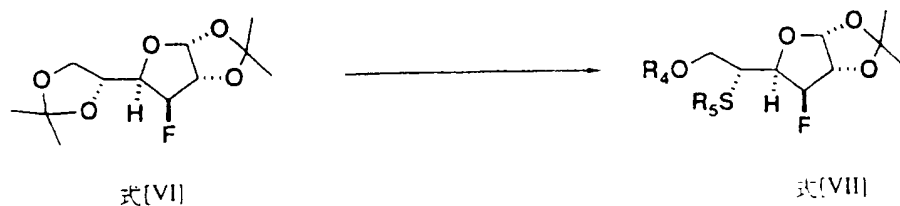
第1工程



第2工程：

式[V I]で表される化合物の5, 6位イソプロピリデン基の選択的脱保護、1級水酸基の選択的保護と2級水酸基への脱離基の導入、1級水酸基の脱保護、5, 6-エポキシ化、硫化試薬による5, 6-チラン化、および求核試薬によるチランの開環とアシル基の導入により式[V I I]で表される化合物を得る工程

第2工程

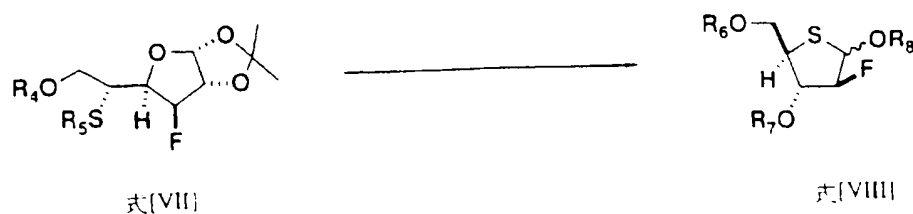


(式中、 R_4 および R_5 はアルキル基またはアシル基を示す)

第3工程：

式[V I I]で表される化合物の1, 2位イソプロピリデン基を加水分解後、酸化剤により酸化的減炭反応を行い、1位をアルコキシ化後、水酸基を保護基で保護して式[V I I I]で表される化合物を得る工程

第3工程

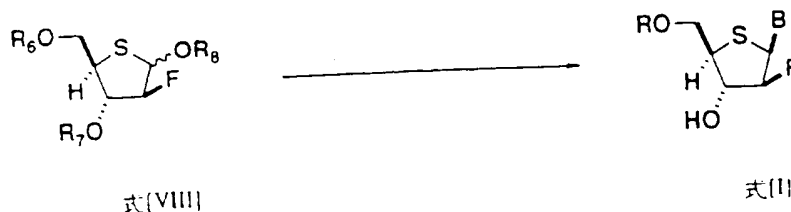


(式中、 R_4 と R_5 は前記と同意義； R_6 と R_7 はアルキル基あるいはアシル基、 R_8 はアルキル基を示す)

第4工程：

式[VIII]で表される化合物の1位アルコキシ基を臭化水素-酢酸溶液で処理してプロモ化し、活性化したBで表される塩基とグリコシル化反応に付して保護基を有する化合物を得、保護基を除去後、所望により糖部5'位をリン酸化することで式[I]で表される9-(2-デオキシ-2-フルオロ-4-チオ-β-D-アラビノフラノシル)プリン誘導体を得る工程

第4工程



(式中、 R_6 、 R_7 および R_8 は前記と同意義；Bはプリン、アザプリンおよびデアザプリンからなる群から選択される塩基を示し、それらはハロゲン原子、アルキル基、ハロアルキル基、アルケニル基、ハロアルケニル基、アルキニル基、アミノ基、アルキルアミノ基、水酸基、ヒドロキシアミノ基、アミノキシ基、アルコキシ基、メルカプト基、アルキルメルカプト基、アリール基、アリールオキシ基、シアノ基によって置換されていてもよい；また、Rは水素原子またはリン酸残基を示す。)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP97/01205

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int. Cl⁶ C07D473/00, 473/16, 473/18, 473/34, A61K31/52,
C07H19/19, 19/20

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int. Cl⁶ C07D473/00, 473/16, 473/18, 473/34, A61K31/52,
C07H19/19, 19/20

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

CAS ONLINE

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	JP, 5-505791, A (University of Birmingham and another), August 26, 1993 (26. 08. 93),	1 - 8
A	Claim; page 6, upper left column & EP, 421777, A	9
Y	JP, 7-300493, A (CIBA-Geigy AG.), November 14, 1995 (14. 11. 95),	1 - 8
A	Claim; page 10 & EP, 679657, A	9
Y	JP, 7-25856, A (Bristol-Myers Squib Co.), January 27, 1995 (27. 01. 95),	1
A	Claim & EP, 630897, A	2 - 9
Y	JP, 3-264582, A (The Noguchi Institute), November 25, 1991 (25. 11. 91),	1
A	Claim (Family: none)	2 - 9

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C.☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier document but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

June 17, 1997 (17. 06. 97)

Date of mailing of the international search report

June 24, 1997 (24. 06. 97)

Name and mailing address of the ISA/

Japanese Patent Office

Facsimile No.

Authorized officer

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP97/01205

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	JP, 5-508152, A (Southern Research Institute), November 18, 1993 (18. 11. 93) & EP, 525106, A & US, 5128458, A	1 - 9

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl⁸ C07D473/00, 473/16, 473/18, 473/34,
A61K31/52, C07H19/19, 19/20

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl⁸ C07D473/00, 473/16, 473/18, 473/34,
A61K31/52, C07H19/19, 19/20

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

CAS ONLINE

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
Y	J P. 5-505791, A (ユニバーシティ オブ バーミンガム 外1名) 26. 8月. 1993 (26. 08. 93)	1-8
A	特許請求の範囲, 第6頁左上欄 & EP. 421777, A	9
Y	J P. 7-300493, A (チバガイギー アクチュエングゼルシャフト) 14. 11月. 1995 (14. 11. 95)	1-8
A	特許請求の範囲, 第10頁 & EP. 679657, A	9

☒ C欄の続きにも文献が列挙されている。☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

「A」特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの

「E」先行文献ではあるが、国際出願日以後に公表されたもの

「L」優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)

「O」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献

「P」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「T」国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの

「X」特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの

「Y」特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの

「&」同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

17. 06. 97

国際調査報告の発送日

24.06.97

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/JP)

郵便番号100

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

富士 美香

電話番号 03-3581-1101 内線 6853

4C

9271

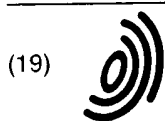
C (続き) 関連すると認められる文献		関連する
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	請求の範囲の番号
Y	J P, 7-25856, A (ブリストルマイヤース スクイブ カンパニー) 27. 1月. 1995 (27. 01. 95)	1
A	特許請求の範囲 & EP, 630897, A	2-9
Y	J P, 3-264582, A (財団法人野口研究所) 25. 11月. 1991 (25. 11. 91)	1
A	特許請求の範囲 (ファミリーなし)	2-9
A	J P, 5-508152, A (サザン リサーチ インスティテュート) 18. 11月. 1993 (18. 11. 93) & EP, 525106, A&US, 5128458, A	1-9

The first part of the document discusses the importance of maintaining accurate records of all transactions. It emphasizes that proper record-keeping is essential for the transparency and accountability of the organization. The document then outlines the specific procedures for recording transactions, including the use of standardized forms and the requirement for double-checking entries.

In the second part, the focus shifts to the review and audit process. It describes how regular audits are conducted to ensure that all records are accurate and up-to-date. The document also mentions the role of the audit committee in overseeing this process and providing recommendations for improvement.

The third part of the document addresses the issue of data security. It highlights the need for robust security measures to protect sensitive information from unauthorized access or theft. The document lists several key security protocols, such as password protection and secure data storage, and stresses the importance of training staff on these protocols.

Finally, the document concludes with a summary of the key points and a call to action. It encourages all staff members to adhere to the guidelines outlined in the document and to report any potential issues or concerns to the appropriate authorities. The document is signed off by the Chief Financial Officer, who is responsible for ensuring the implementation of these policies.



(19)

Europäisches Patentamt

European Patent Office

Office européen des brevets



(11)

EP 0 839 813 A1

(12)

EUROPEAN PATENT APPLICATION

published in accordance with Art. 158(3) EPC

(43) Date of publication:

06.05.1998 Bulletin 1998/19

(21) Application number: 97916632.9

(22) Date of filing: 09.04.1997

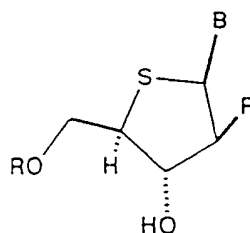
(51) Int. Cl.⁶: C07D 473/00, C07D 473/16,
C07D 473/18, C07D 473/34,
A61K 31/52, C07H 19/19,
C07H 19/20(86) International application number:
PCT/JP97/01205(87) International publication number:
WO 97/37993 (16.10.1997 Gazette 1997/44)(84) Designated Contracting States:
CH DE ES FR GB IT LI(30) Priority: 09.04.1996 JP 111968/96
26.07.1996 JP 215083/96(71) Applicant: YAMASA CORPORATION
Choshi-shi, Chiba 288 (JP)(72) Inventors:
• YAMADA, Kohei
Choshi-shi, Chiba-ken (JP)

- YOSHIMURA, Yuichi
Kashima-gun, Ibaraki-ken (JP)
- MACHIDA, Haruhiko
Choshi-shi, Chiba-ken (JP)
- WATANABE, Mikari
Choshi-shi, Chiba-ken (JP)

(74) Representative:
Jung, Elisabeth, Dr.
Clemensstrasse 30
80803 München (DE)

(54) 9-(2-DEOXY-2-FLUORO-4-THIO-BETA-D-ARABINOFURANOSYL)PURINE DERIVATIVES

(57) The present invention relates to 9-(2-deoxy-2-fluoro-4-thio-beta-D-arabinofuranosyl)purine derivatives having antiviral activity, represented by formula [I]:



EP 0 839 813 A1

wherein B represents a base selected from the group consisting of purine, azapurine and deazapurine, which may be substituted with halogen, alkyl, haloalkyl, alkenyl, haloalkenyl, alkynyl, amino, alkylamino, hydroxyl, hydroxyamino, aminoxy, alkoxy, mercapto, alkylmercapto, aryl, aryloxy or cyano; and R represents a hydrogen atom or a phosphoric acid residue, and to a process for the production and use thereof.

Description

TECHNICAL FIELD

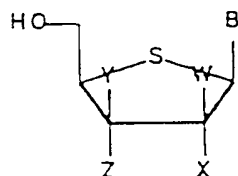
5 The present invention relates to novel 9-(2-deoxy-2-fluoro-4-thio-beta-D-arabinofuranosyl)purine derivatives and a process for the production and use thereof.

BACKGROUND ART

10 A research group of University of Birmingham makes reference to 1-(2-fluoro-4-thio-beta-D-arabinofuranosyl)-5-methyluracil and 1-(2-fluoro-4-thio-beta-D-arabinofuranosyl)-5-iodocytosine in International Patent Application PCT/GB90/01518 (International Publication Number: WO 91/04982).

Further, a research group of NIH has recently made a report on such compounds as 1-(2,3-dideoxy-2-fluoro-4-thio-beta-D-erythro-pentafuranosyl)uracil represented by the following formula:

15



20

1a,b; W=X=Y=Z=H
 2a,b; W=F, X=Y=Z=H
 3a,b; X=F, W=Y=Z=H
 4a,b; Y=F, W=X=Z=H
 5a,b; Z=F, W=X=Y=H

25 provided that B is uracil in series a, and cytosine in series b (Tetrahedron Letters, **35**, 7569-7572 (1994); Tetrahedron Letters, **35**, 7573-7576 (1994); Chemistry Letters, 301-302 (1995)).

Thus, both of these groups have made reports on pyrimidine nucleosides, but are quite silent on purine nucleosides. An object of the present invention is therefore to provide novel and useful 9-(2-deoxy-2-fluoro-4-thio-beta-D-arabinofuranosyl)purine derivatives.

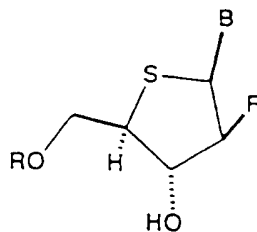
30

DISCLOSURE OF THE INVENTION

We formerly developed a simple process for synthesizing 2'-deoxy-2'-substituted-4'-thionucleoside derivatives, using glucose as a starting material (WO 96/01834). After this, we continued our studies on the basis of knowledge 35 acquired in the course of the development of this process. As a result, we have established a simple process for synthesizing 9-(2-deoxy-2-fluoro-4-thio-beta-D-arabinofuranosyl) purine derivatives, and found that the compounds obtainable by this new process have excellent antiviral activity. The present invention has been accomplished on the basis of this finding.

The present invention therefore relates to 9-(2-deoxy-2-fluoro-4-thio-beta-D-arabinofuranosyl)purine derivatives 40 represented by the following formula [I]:

45



50

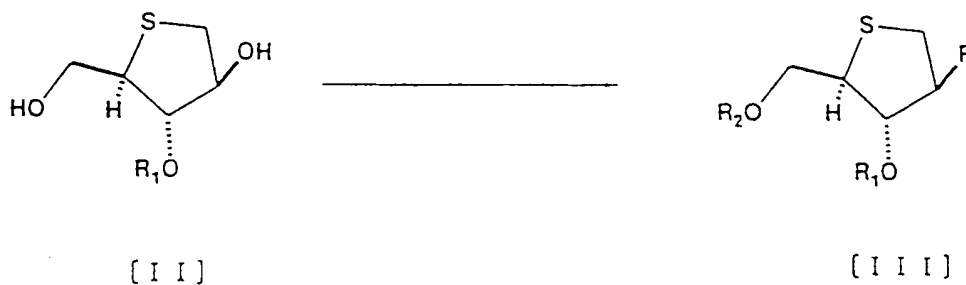
[I]

55 wherein B represents a base selected from the group consisting of purine, azapurine and deazapurine, which may be substituted with halogen, alkyl, haloalkyl, alkenyl, haloalkenyl, alkynyl, amino, alkylamino, hydroxyl, hydroxyamino, aminoxy, alkoxy, mercapto, alkylmercapto, aryl, aryloxy or cyano; and R represents a hydrogen atom or a phosphoric acid residue, and to pharmaceutical compositions, especially antiviral agents, comprising these compounds as active ingre-

dients. Further, the present invention also relates to a process for producing 9-(2-deoxy-2-fluoro-4-thio-beta-D-arabino-furanosyl) purine derivatives represented by the above formula [I], comprising the following 1st to 3rd steps:

1st step:

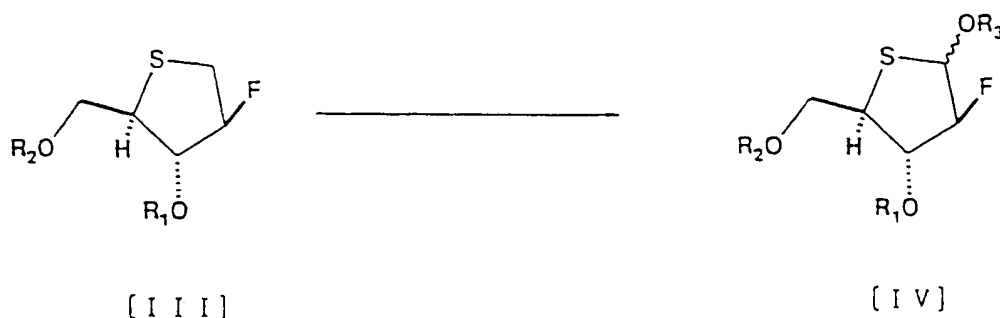
a step of reacting a compound represented by formula [II] with diethylaminosulfur trifluoride (DAST) after protecting the primary hydroxyl group of the compound [II], thereby obtaining a compound represented by formula [III]:



wherein R₁ and R₂ represent an alkyl, silyl or acyl group;

2nd step:

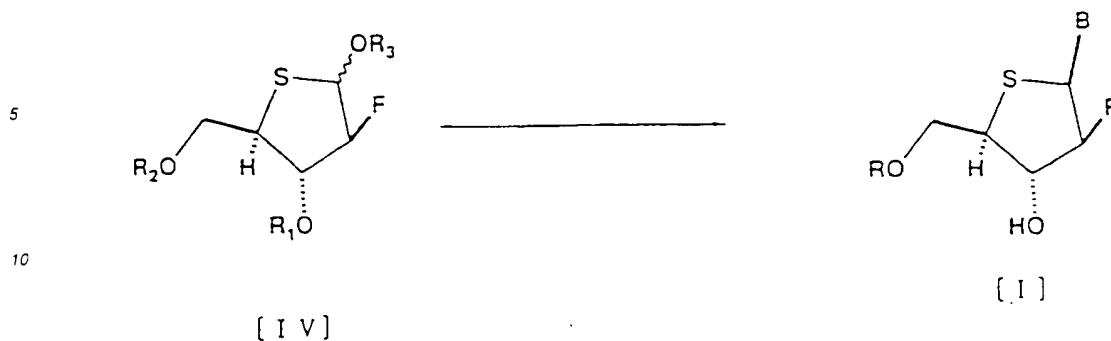
a step of converting the compound represented by formula [III] into a sulfoxide by reacting the compound [III] with an oxidizing agent, and subjecting the sulfoxide to Pummerer rearrangement reaction by treating it with an acid anhydride or acid chloride, thereby obtaining a compound represented by formula [IV]:



wherein R₁ and R₂ are as defined above, and R₃ represents an acyl group; and

3rd step:

a step of subjecting the compound represented by formula [IV] and a base represented by B to glycosylation reaction in the presence of a Lewis acid catalyst to obtain a protected compound, removing the protecting groups, and, if desired, phosphorylating the 5'-position of the sugar moiety of the compound, thereby obtaining a 9-(2-deoxy-2-fluoro-4-thio-beta-D-arabinofuranosyl)purine derivative represented by formula [I]:

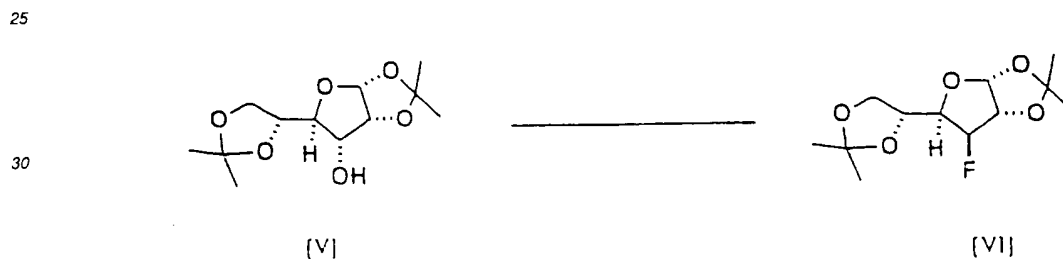


15 wherein B, R, R₁, R₂ and R₃ are as defined above.

Furthermore, the present invention relates to a process for producing 9-(2-deoxy-2-fluoro-4-thio-beta-D-arabino-furanosyl)purine derivatives represented by the above formula [I], comprising the following 1st to 4th steps:

20 1st step:

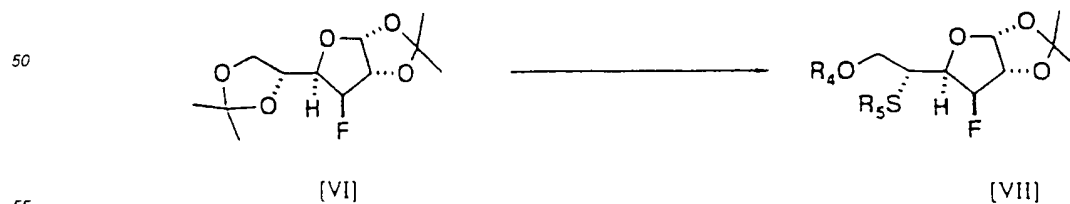
a step of introducing a leaving group into the hydroxyl group on a compound represented by formula [V], and treating the compound with a nucleophilic reagent by which a fluorine atom can be introduced, thereby obtaining a compound represented by formula [VI]:



35

40 2nd step:

a step of selectively deprotecting the isopropylidene group at the 5- and 6-positions of the compound represented by formula [VI], selectively protecting the primary hydroxyl group of the compound, introducing a leaving group into the secondary hydroxyl group of the compound, deprotecting the primary hydroxyl group, performing 5,6-epoxidation, performing 5,6-thiiranation by using a sulfurizing reagent, opening the thiirane ring by using a nucleophilic reagent, and causing acylation, thereby obtaining a compound represented by formula [VII]:

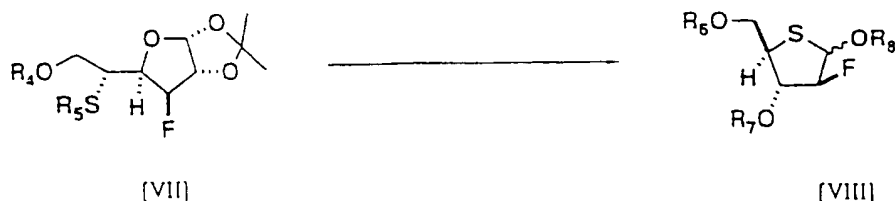


55

wherein R_4 and R_5 represent an alkyl or acyl group;

3rd step:

a step of hydrolyzing the isopropylidene group at the 1- and 2-positions of the compound represented by formula [VII], carrying out oxidation by using an oxidizing agent, alkoxyating the 1-position of the compound, and protecting the hydroxyl group with a protecting group, thereby obtaining a compound represented by formula [VIII]:



wherein R_4 and R_5 are as defined above, R_6 and R_7 represent an alkyl or acyl group, and R_8 represents an alkyl group; and

4th step:

a step of brominating the alkoxy group at the 1-position of the compound represented by formula [VIII] by treating the compound [VIII] with a hydrogen bromide-acetic acid solution, subjecting the brominated compound and an activated base represented by B to glycosylation reaction to obtain a protected compound, removing the protecting groups, and, if desired, phosphorylating the 5'-position of the sugar moiety of the compound, thereby obtaining a 9-(2-deoxy-2-fluoro-4-thio-beta-D-arabinofuranosyl)purine derivative represented by formula [I]:



wherein R_6 , R_7 , R_8 , B and R are as defined above.

BEST MODE FOR CARRYING OUT THE INVENTION

(1) Compounds of the Invention

The compounds of the present invention are 9-(2-deoxy-2-fluoro-4-thio-beta-D-arabinofuranosyl)purine derivatives represented by the above formula [I]. The base represented by B in the formula is selected from the group consisting of purine, azapurine and deazapurine. These bases may have a substituent such as halogen, alkyl, haloalkyl, alkenyl, haloalkenyl, alkynyl, amino, alkylamino, hydroxyl, hydroxyamino, aminoxy, alkoxy, mercapto, alkylmercapto, aryl, aryloxy or cyano. There is no particular limitation on the number of substituents and also on the position of substitution.

Examples of halogen atoms which can be used as the substituents include chlorine, fluorine, iodine and bromine. Examples of alkyl groups include lower alkyl groups having 1 to 7 carbon atoms, such as methyl, ethyl and propyl. Examples of haloalkyl groups include those which contain an alkyl having 1 to 7 carbon atoms, such as fluoromethyl, difluoromethyl, trifluoromethyl, bromomethyl and bromoethyl. Examples of alkenyl groups include those having 2 to 7

carbon atoms, such as vinyl and allyl. Examples of haloalkenyl groups include those which contain an alkenyl having 2 to 7 carbon atoms, such as bromovinyl and chlorovinyl. Examples of alkynyl groups include those having 2 to 7 carbon atoms, such as ethynyl and propynyl. Examples of alkylamino groups include those which contain an alkyl having 1 to 7 carbon atoms, such as methylamino and ethylamino.

5 Examples of alkoxy groups include those having 1 to 7 carbon atoms, such as methoxy and ethoxy. Examples of alkylmercapto groups include those which contain an alkyl having 1 to 7 carbon atoms, such as methylmercapto and ethylmercapto. Examples of aryl groups include a phenyl group; alkylphenyl groups which contain an alkyl having 1 to 5 carbon atoms, such as methylphenyl and ethylphenyl; alkoxyphenyl groups which contain an alkoxy having 1 to 5 carbon atoms, such as methoxyphenyl and ethoxyphenyl; alkylaminophenyl groups which contain an alkylamino having 1 to 5 carbon atoms, such as dimethylaminophenyl and diethylaminophenyl; and halogenophenyl groups such as chlorophenyl and bromophenyl.

Specific examples of purine bases include purine, 6-aminopurine (adenine), 6-hydroxypurine, 6-fluoropurine, 6-chloropurine, 6-methylaminopurine, 6-dimethylaminopurine, 6-trifluoromethylaminopurine, 6-benzoylaminopurine, 6-acetylaminopurine, 6-hydroxyaminopurine, 6-aminoxypurine, 6-methoxypurine, 6-acetoxypurine, 6-benzoyloxypurine, 15 6-methylpurine, 6-ethylpurine, 6-trifluoromethylpurine, 6-phenylpurine, 6-mercaptopurine, 6-methylmercaptopurine, 6-aminopurine-1-oxide, 6-hydroxypurine-1-oxide, 2-amino-6-hydroxypurine (guanine), 2,6-diaminopurine, 2-amino-6-chloropurine, 2-amino-6-iodopurine, 2-aminopurine, 2-amino-6-mercaptopurine, 2-amino-6-methylmercaptopurine, 2-amino-6-hydroxyaminopurine, 2-amino-6-methoxypurine, 2-amino-6-benzoyloxypurine, 2-amino-6-acetoxypurine, 2-amino-6-methylpurine, 2-amino-6-cyclopropylaminomethylpurine, 2-amino-6-phenylpurine, 2-amino-8-bromopurine, 6-cyanopurine, 20 6-amino-2-chloropurine (2-chloroadenine), and 6-amino-2-fluoropurine (2-fluoroadenine).

Specific examples of azapurine and deazapurine bases include 6-amino-3-deazapurine, 6-amino-8-azapurine, 2-amino-6-hydroxy-8-azapurine, 6-amino-7-deazapurine, 6-amino-1-deazapurine and 6-amino-2-azapurine.

Specific examples of typical compounds of the present invention include the following compounds and 5'-phosphoric esters thereof:

25 9-(2-deoxy-2-fluoro-4-thio-beta-D-arabinofuranosyl)adenine,
2-chloro-9-(2-deoxy-2-fluoro-4-thio-beta-D-arabinofuranosyl)adenine,
2-fluoro-9-(2-deoxy-2-fluoro-4-thio-beta-D-arabinofuranosyl)adenine,
2-amino-6-chloro-9-(2-deoxy-2-fluoro-4-thio-beta-D-arabinofuranosyl)purine,
30 2-amino-6-methoxy-9-(2-deoxy-2-fluoro-4-thio-beta-D-arabinofuranosyl)purine,
2-amino-6-ethoxy-9-(2-deoxy-2-fluoro-4-thio-beta-D-arabinofuranosyl)purine,
2-amino-6-cyclopropylamino-9-(2-deoxy-2-fluoro-4-thio-beta-D-arabinofuranosyl)purine,
9-(2-deoxy-2-fluoro-4-thio-beta-D-arabinofuranosyl)guanine,
9-(2-deoxy-2-fluoro-4-thio-beta-D-arabinofuranosyl)hypoxanthine,
35 9-(2-deoxy-2-fluoro-4-thio-beta-D-arabinofuranosyl)2,6-diaminopurine, and
9-(2-deoxy-2-fluoro-4-thio-beta-D-arabinofuranosyl)2,6-dichloropurine.

The compounds of the present invention may also be in the form of salt, hydrate or solvate. Examples of the salts include pharmaceutically acceptable salts, for example, acid adducts such as hydrochlorides and sulfates when R is a hydrogen atom; and alkaline metal salts such as sodium, potassium and lithium salts, alkaline earth metal salts such as a calcium salt, and ammonium salts when R is a phosphoric acid residue.

40 Examples of the hydrates or solvates include those which are obtained by attaching 0.3 to 3.0 molecules of water or a solvent to one molecule of the compounds of the present invention or salts thereof. Further, various isomers such as tautomers can also be included in the compounds of the present invention.

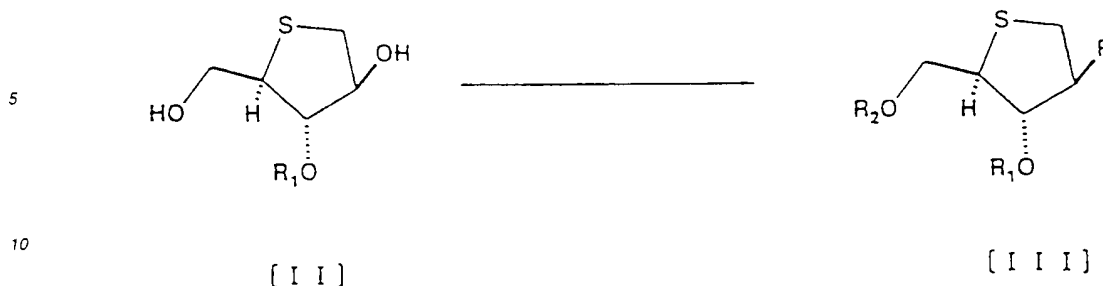
45 (2) Process for Producing the Compounds of the Invention

The compounds of the present invention can be produced by a reaction process comprising the following 1st to 3rd steps.

50 1st step:

The 1st step is a step of reacting a compound represented by formula [II] with DAST after protecting the primary hydroxyl group of the compound [II], thereby obtaining a compound represented by formula [III]:

55



15 wherein R_1 and R_2 represent an alkyl, silyl or acyl group.

The starting compound is represented by the above formula [II], and can be readily synthesized from glucose by a known method (*J. Org. Chem.*, 61, 822 (1996)).

R_1 and R_2 in the formula are as defined above. Specific examples of R_1 or R_2 include unsubstituted or substituted alkyl groups such as methyl, ethyl, benzyl, methoxybenzyl, dimethoxybenzyl, trityl and dimethoxytrityl, unsubstituted or substituted silyl groups such as t-butyldimethylsilyl and t-butyldiphenylsilyl, and acyl groups such as acetyl, benzoyl and pivaloyl.

The introduction of the protecting group can be achieved by a conventional technique. For example, in the case where a silyl protecting group is introduced, the reaction may be carried out by using 1 to 10 moles of a silylating agent (e.g., t-butyldiphenylsilyl chloride, t-butyldimethylsilyl chloride, or the like), and, when necessary, 1 to 5 moles of a base such as imidazole for 1 mole of the compound represented by formula [II], in a reaction solvent (e.g., a single solvent or solvent mixture of pyridine, picoline, dimethylaminopyridine, dimethylformamide, acetonitrile, methylene chloride, or the like) at a temperature of 0 to 50°C.

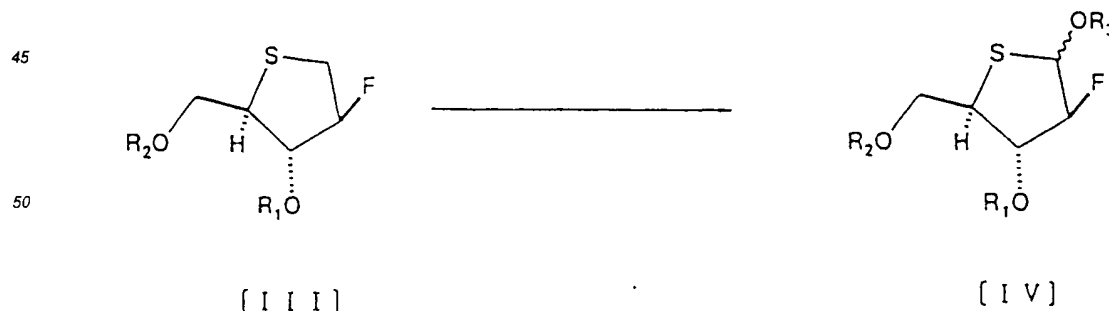
The compound having a protecting group thus obtained is allowed to react with DAST to obtain a compound of formula [III].

The reaction with DAST can be carried out by using 1 to 20 moles of DAST for 1 mole of the compound of formula [II], in a solvent such as methylene chloride, dichloroethane, benzene, toluene, xylene, hexane or the like, at a temperature of -100 to 150°C, preferably -80°C to room temperature, if necessary, in an atmosphere of an inert gas such as argon or nitrogen.

The compound of formula [III] may be isolated by a conventional means for the isolation and purification of sugar. For instance, it is possible to purify the reaction solution by silica gel column chromatography after it is partitioned between ethyl acetate and water, thereby isolating the compound [III].

2nd step:

The 2nd step is a step of converting the compound represented by formula [III] into a sulfoxide by reacting the compound [III] with an oxidizing agent, and subjecting the sulfoxide to Pummerer rearrangement reaction by treating it with an acid anhydride or acid chloride, thereby obtaining a compound represented by formula [IV]:



55

wherein R_1 and R_2 are as defined above, and R_3 represents an acyl group.

The derivation to a sulfoxide can be achieved by a conventional method. For instance, a method in which a compound is treated with m-chloroperbenzoic acid in methylene chloride at a temperature of -100 to 0°C under a stream of an inert gas such as argon or nitrogen (*J. Org. Chem.*, **61**, 822 (1996)), or a method in which a compound is treated with sodium metaperiodate in an alcohol solvent such as methanol (*Tetrahedron Letter*, **993** (1979)) can be utilized.

The Pummerer rearrangement reaction, which is performed by a treatment with an acid anhydride or acid chloride, can also be carried out by a conventional method. Namely, the reaction can be carried out by using an acid anhydride such as acetic anhydride or trifluoroacetic anhydride, or an acid chloride such as mesyl chloride in an amount of 1 to 100 moles for 1 mole of the sulfoxide, at a temperature of -80 to 150°C, when necessary, under a stream of an inert gas such as argon or nitrogen. Although the acid anhydride or acid chloride used functions as a reaction solvent, it is also possible to carry out the above reaction in an organic solvent such as methylene chloride, when necessary.

The compound of formula [IV] thus obtained may be isolated by a conventional means for the isolation and purification of sugar. For instance, it is possible to purify the reaction solution by silica gel column chromatography after it is partitioned between ethyl acetate and water, thereby isolating the compound [IV].

3rd step:

The 3rd step is a step of subjecting the compound represented by formula [IV] and a base represented by B to glycosylation reaction in the presence of a Lewis acid catalyst to obtain a protected compound, removing the protecting groups, and, if desired, phosphorylating the 5'-position of the sugar moiety of the compound, thereby obtaining a 9-(2-deoxy-2-fluoro-4-thio-beta-D-arabinofuranosyl)purine derivative represented by formula [I]:



wherein R_1 , R_2 , R_3 , B and R are as defined before.

The glycosylation reaction of the compound of formula [IV] can be carried out by using 1 to 10 moles of a base represented by B and 0.1 to 10 moles of a Lewis acid such as trimethylsilyl trifluoromethanesulfonate, tin tetrachloride, titanium tetrachloride, zinc chloride or boron trifluoride for 1 mole of the compound of formula [IV], in a solvent such as methylene chloride, chloroform, dichloroethane, acetonitrile or dimethylformamide, at a temperature of -50 to 100°C, when necessary, under a stream of an inert gas such as argon or nitrogen. A base which has been silylated by a conventional technique may also be used as the base.

The removal of the protecting group may be attained by a technique properly selected, depending upon the type of the protecting group used, from conventional techniques such as acid hydrolysis, alkali hydrolysis, a treatment with tetrabutylammonium fluoride, and catalytic hydrogenation. For example, in the case where a benzyl protecting group is removed, deprotection can be attained by a method in which the compound is treated with boron trichloride or boron tribromide in methylene chloride at a temperature of -100°C to room temperature under a stream of an inert gas such as argon or nitrogen.

Further, when a compound of formula [I] in which R is a phosphoric acid residue is synthesized, the desired compound of free acid type or salt type can be obtained by a conventional method, by reacting the compound which has been deprotected by the above method with a phosphorylating agent used for a conventional reaction for selectively phosphorylating the 5'-position of nucleosides, such as phosphorus oxychloride, tetrachloropyrophosphoric acid or beta-cyanoethylphosphoric acid-DCC.

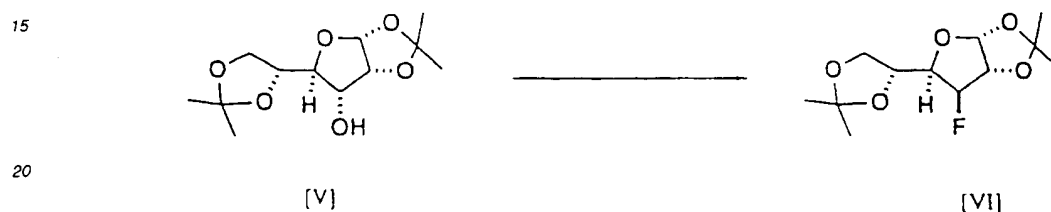
The compound of the present invention thus obtained can be isolated and purified by a technique which is a proper combination of techniques conventionally used for the isolation and purification of nucleosides or nucleotides. For instance, in the case of the isolation of a nucleoside derivative (where R in formula [I] is a hydrogen atom), the desired compound may be obtained by crystallization from a proper solvent such as ethanol, which is carried out after the solvent in the reaction solution is distilled off. The desired compound can also be obtained as a salt-type compound, if necessary. Further, in the case of the isolation of a nucleotide derivative (where R in formula [I] is a phosphoric acid

residue), the reaction solution may be purified by ion-exchange column chromatography, or adsorption column chromatography using activated carbon or the like, and then freeze-dried or crystallized to obtain the desired compound of free acid type. If necessary, the desired compound can also be obtained as a salt-type compound.

Alternatively, the compounds of the present invention can also be produced by a process comprising the following 1st to 4th steps. This process is advantageous in that the reaction conditions to be employed are relatively mild and that improvements in the reaction yield and in the yield of a beta-derivative can be attained or expected.

1st step:

The 1st step is a step of introducing a leaving group into the hydroxyl group on a compound represented by formula [V], and treating the compound with a nucleophilic reagent by which a fluorine atom can be introduced, thereby obtaining a compound represented by formula [VI]:



The starting compound is represented by formula [V], and can be readily produced from glucose by a known method (*Carbohydr. Res.*, 24, 192 (1972)).

Examples of the leaving group to be introduced include sulfonyl groups such as methanesulfonyl, p-toluenesulfonyl, benzenesulfonyl, imidazoylsulfonyl and trifluoromethanesulfonyl. Methanesulfonyl, p-toluenesulfonyl and imidazoylsulfonyl are preferred.

The introduction of the leaving group may be achieved by a conventional technique. For instance, in the case where methanesulfonyl, p-toluenesulfonyl or imidazoylsulfonyl group is introduced, the reaction can be carried out by using 1 to 10 moles of methanesulfonyl chloride, p-toluenesulfonyl chloride or sulfonyl chloride, and, when necessary, 2 to 50 moles of a base such as imidazole for 1 mole of the compound of formula [V], in a reaction solvent (e.g., a single solvent or solvent mixture of pyridine, picoline, dimethylaminopyridine, dimethylformamide, acetonitrile, methylene chloride or the like), at a temperature of -50 to 50°C, preferably 0 to 50°C.

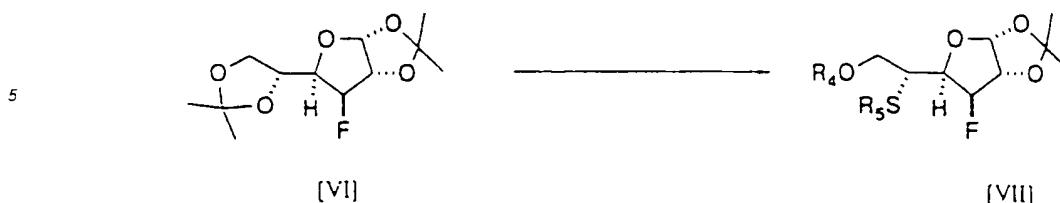
As the nucleophilic reagent by which a fluorine atom can be introduced, potassium fluoride (including a spray-dried product), potassium hydrogenfluoride, ammonium fluoride, ammonium hydrogenfluoride, tetrabutylammonium fluoride or the like can be used.

The reaction with such a nucleophilic reagent may be carried out by using a nucleophilic reagent in an amount of 2 to 100 moles, preferably 2 to 50 moles for 1 mole of the compound of formula [V], in a glycol solvent such as 2-methoxyethanol or 2,3-butanediol, at a temperature ranging from room temperature to 300°C, preferably from 50 to 200°C.

The compound of formula [VI] thus obtained may be isolated by a conventional means for the isolation and purification of sugar. For instance, it is possible to purify the reaction solution by silica gel column chromatography after it is partitioned between ethyl acetate and water, followed by elution with an organic solvent such as n-hexane/ethyl acetate, thereby isolating the compound [VI].

2nd step:

The 2nd step is a step of selectively deprotecting the isopropylidene group at the 5- and 6-positions of the compound represented by formula [VI], selectively protecting the primary hydroxyl group of the compound, introducing a leaving group into the secondary hydroxyl group of the compound, deprotecting the primary hydroxyl group, performing 5,6-epoxidation, performing 5,6-thiirane by using a sulfurizing reagent, opening the thiirane ring by using a nucleophilic reagent, and causing acylation, thereby obtaining a compound represented by formula [VII]:



10

wherein R_4 and R_5 represent an alkyl or acyl group.

15 The selective deprotection of the isopropylidene group at the 5- and 6-positions may be achieved by a conventional technique of acid hydrolysis. Examples of acids that can be used in the acid hydrolysis include mineral acids such as hydrochloric acid and sulfuric acid, and organic acids such as acetic acid, trifluoroacetic acid and p-toluenesulfonic acid. When the deprotection reaction is carried out, an acid to be used is diluted with water to a proper concentration, and, when necessary, the diluted acid is mixed with an organic solvent such as THF or dioxane to obtain a solvent mixture. The deprotection reaction can be carried out by using such an acid at a temperature of -50 to 150°C , preferably -20 to 100°C , with stirring.

20 An ordinary hydroxy-protecting group may be used as the protecting group which is used for the selective protection of the primary hydroxyl group. Examples of such a protecting group include benzyl protecting groups such as benzyl and dimethoxybenzyl, silyl protecting groups such as t-butyldimethylsilyl, t-butyldiphenylsilyl and triethylsilyl, ether protecting groups such as methoxymethyl, methoxyethoxyethyl, tetrahydrofuran and tetrahydropyran, trityl protecting groups such as trityl, monomethoxytrityl and dimethoxytrityl, and acyl groups such as acetyl, benzoyl and pivaloyl.

25 The introduction of such a protecting group may be achieved by a conventional means. For example, in the case where a silyl protecting group such as t-butyldiphenylsilyl group, or an acyl group such as benzoyl group is introduced, the reaction can be carried out by using 0.8 to 10 moles of a silylating agent (e.g., t-butyldiphenylsilyl chloride, or the like) or acylating agent (e.g., benzoyl chloride, or the like), and, when necessary, 1 to 5 moles of a base such as imidazole or pyridine for 1 mole of the compound of formula [VI], in a reaction solvent (e.g., a single solvent or solvent mixture of pyridine, picoline, dimethylaminopyridine, dimethylformamide, acetonitrile, methylene chloride, or the like), at a temperature of -20 to 50°C .

30 Further, as the leaving group to be introduced into the secondary hydroxyl group, the same leaving groups as those enumerated in the 1st step can be used. The introduction of such a leaving group can be effected by the same method as that described in the 1st step.

35 The deprotection of the primary hydroxyl group may be achieved by a technique properly selected, depending upon the protecting group used, from conventional techniques such as acid hydrolysis, alkali hydrolysis combined with ester interchange, a treatment with a fluoride, and catalytic hydrogenation. In particular, when alkali hydrolysis and ester interchange are performed, epoxidation reaction also proceeds simultaneously under the same conditions. However, 40 when the epoxidation reaction proceeded merely insufficiently under the conditions of the alkali hydrolysis and ester interchange, or when the deprotection was conducted under other conditions, the cis-diol derivative obtained by the deprotection can be converted into the desired epoxy derivative by treating the cis-diol derivative with a base. Examples of the bases that can be used in this treatment include sodium hydride, potassium hydride, butyl lithium, diisopropylamide, sodium methoxide, sodium ethoxide, potassium carbonate, and sodium carbonate. The treatment with such a 45 base can be carried out by using 0.5 to 5 moles of a base for 1 mole of the compound of formula [IV], in an organic solvent such as an ether solvent, for instance, ether, THF or dioxane, or an alcohol solvent, for instance, methanol or ethanol, at a temperature of -50 to 120°C .

50 The conversion of the epoxidized derivative obtained into a thiirane derivative can be effected by using 0.1 to 10 moles of a sulfurizing reagent for 1 mole of the compound of formula [VI], in an organic solvent such as an alcohol solvent (for example, methanol, ethanol or isopropanol), pyridine, acetonitrile or DMF, at a temperature of 0 to 150°C . Examples of sulfurizing reagents that can be used in the above treatment include thiourea, xanthate and thiocarbonyl diimidazole.

55 The ring opening of the thiirane derivative obtained, and the introduction of an acyl group can be effected by using 1 to 100 moles of an organic acid, organic acid salt or acid anhydride for 1 mole of the compound of formula [VI], in any mixture of organic acids, organic acid salts and acid anhydrides, at a temperature ranging from room temperature to 200°C . Examples of organic acids that can be used in the above reaction include acetic acid, propionic acid, benzoic acid, pivalic acid and trifluoroacetic acid; examples of organic acid salts include sodium acetate, potassium acetate, lithium acetate, sodium propionate, potassium propionate, lithium propionate, sodium benzoate, potassium benzoate, lith-

ium benzoate, sodium trifluoroacetate, potassium trifluoroacetate and lithium trifluoroacetate; and examples of acid anhydrides include acetic anhydride, propionic anhydride, benzoic anhydride, pivalic anhydride and trifluoroacetic anhydride.

The compound of formula [VII] thus obtained may be isolated by a conventional means for the isolation and purification of sugar. For instance, it is possible to purify the reaction solution by silica gel column chromatography after it is partitioned between ethyl acetate and water, followed by elution with an organic solvent such as n-hexane/ethyl acetate, thereby isolating the compound [VII].

3rd step:

The 3rd step is a step of hydrolyzing the isopropylidene group at the 1- and 2-positions of the compound represented by formula [VII], carrying out oxidation by using an oxidizing agent, alkoxylation the 1-position, and protecting the hydroxyl group with a protecting group, thereby obtaining a compound represented by formula [VIII]:



wherein R_4 and R_5 are as defined before, R_6 and R_7 represent an alkyl or acyl group, and R_8 represents an alkyl group.

The hydrolysis of the isopropylidene group at the 1- and 2- positions can be carried out by the same method as that used for the deprotection of the isopropylidene group at the 5- and 6- positions, described in the above 2nd step.

The oxidation can be carried out by using 0.1 to 10 moles of an oxidizing agent such as sodium periodate or potassium permanganate for 1 mole of the compound of formula [VII], in a single solvent of an organic solvent such as an alcohol solvent (for example, methanol), an ether solvent (for example, THF or dioxane), methylene chloride, dichloroethane, benzene or toluene, or in a solvent mixture of such a solvent with water, at a temperature of -50 to 100°C, preferably -20 to 50°C.

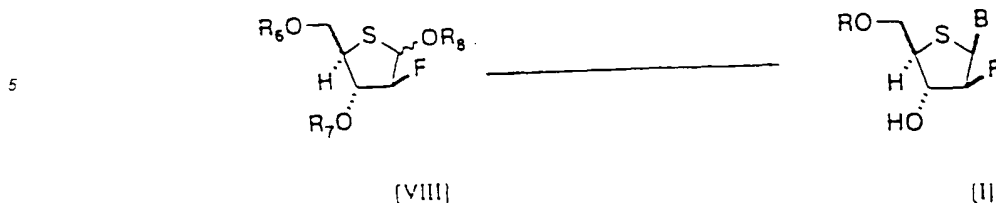
The alkoxylation reaction of the 1-position can be effected by using largely excessive hydrogen chloride, in an alcohol solvent such as methanol, ethanol, isopropanol, t-butanol or benzyl alcohol, at a temperature of -50 to 100°C.

An ordinary hydroxy-protecting group may be used as the protecting group for the hydroxyl groups at the 3- and 5- positions. Examples of such a protecting group include benzyl protecting groups such as benzyl and dimethoxybenzyl, silyl protecting groups such as t-butyldimethylsilyl, t-butyldiphenylsilyl and triethylsilyl, ether protecting groups such as methoxymethyl, methoxyethoxyethyl, tetrahydrofuran and tetrahydropyran, trityl protecting groups such as trityl, monomethoxytrityl and dimethoxytrityl, and acyl groups such as acetyl, benzoyl and pivaloyl. The introduction of a protecting group can be achieved by the same method as that described in the above 2nd step.

The compound of formula [VIII] thus obtained may be isolated by a conventional means for the isolation and purification of sugar. For example, it is possible to purify the reaction solution by silica gel column chromatography after it is partitioned between ethyl acetate and water, followed by elution with an organic solvent such as n-hexane/ethyl acetate, thereby isolating the compound [VIII].

4th step:

The 4th step is a step of brominating the alkoxy group at the 1-position of the compound represented by formula [VIII] by treating the compound [VIII] with a hydrogen bromide-acetic acid solution, subjecting the brominated compound and an activated base represented by B to glycosylation reaction to obtain a protected compound, removing the protecting groups, and, if desired, phosphorylating the 5'-position of the sugar moiety of the compound, thereby obtaining a 9-(2-deoxy-2-fluoro-4-thio-beta-D-arabinofuranosyl)purine derivative represented by formula [I]:



wherein R_6 , R_7 , R_8 and B are as defined before, and R represents hydrogen atom or a phosphoric acid residue.

The bromination of the alkoxy group at the 1-position of the compound of formula [VIII] can be effected by treating the compound with a hydrogen bromide-acetic acid solution containing approximately 0.1 to 10 moles of hydrogen bromide for 1 mole of the compound of formula [VIII], with or without a solvent mixture with methylene chloride, chloroform, dichloroethane or the like, at a temperature of -50 to 70°C .

Further, in the case where the above bromination reaction does not fully proceed, it is possible to firstly decompose the compound of formula [VIII] by adding acetic acid to obtain a 1-acetoxy derivative, which may then be subjected to the above-described bromination reaction. The decomposition of the compound of formula [VIII] with the addition of acetic acid is effected in a mixture of acetic acid and acetic anhydride in an amount of 1 mole to a largely excessive amount for 1 mole of the compound of formula [VIII], in the presence of a mineral acid such as sulfuric acid, at a temperature of -20 to 100°C , preferably 0 to 50°C .

The glycosylation reaction can be carried out by using 1 to 10 moles of an activated base (a silylated base, or a metallic salt or allyl ammonium salt of a base), and, when necessary, 0.1 to 10 moles of a Lewis acid such as trimethylsilyl trifluoromethanesulfonate, tin tetrachloride, titanium tetrachloride, zinc chloride or boron trifluoride for 1 mole of the compound of formula [VIII], in a reaction solvent such as methylene chloride, chloroform, dichloroethane, acetonitrile, dimethylformamide or the like, at a temperature of -50 to 100°C , under a stream of an inert gas such as argon or nitrogen.

Alternatively, it is also possible to carry out the glycosylation reaction in an organic solvent such as methylene chloride, chloroform, dichloroethane or acetonitrile, or in the absence of a solvent, in the presence of a silylated base, and, when necessary, a catalyst such as sodium iodide, at a temperature ranging from room temperature to 200°C .

The protecting group may be removed by a technique properly selected, depending upon the protecting group used, from conventional techniques such as acid hydrolysis, alkali hydrolysis, a treatment with a fluoride, and catalytic hydrogenation. In particular, in the case where a benzyl protecting group is removed, it is desirable to employ a method in which deprotection is achieved by using boron trichloride or boron tribromide in methylene chloride at a temperature ranging from -100°C to room temperature under a stream of an inert gas such as argon or nitrogen.

Further, when a compound of formula [I] in which R is a phosphoric acid residue is synthesized, the desired compound of free acid type or salt type can be obtained by a conventional method, e.g., by reacting the compound which has been deprotected by the above method with a phosphorylating agent used for a conventional reaction for selectively phosphorylating the 5'-position of nucleosides, such as phosphorus oxychloride, tetra-chloropyrophosphoric acid or beta-cyanoethylphosphoric acid-DCC.

The compound of the present invention thus obtained can be isolated and purified by a technique which is a proper combination of techniques conventionally used for the isolation and purification of nucleosides or nucleotides. For instance, in the case of the isolation of a nucleoside derivative (where R in formula [I] is a hydrogen atom), the desired compound may be obtained by crystallization from a proper solvent such as ethanol, which is carried out after the solvent in the reaction solution is distilled off. The desired compound can also be obtained as a salt-type compound, if necessary. Further, in the case of the isolation of a nucleotide derivative (where R in formula [I] is a phosphoric acid residue), the reaction solution may be purified by ion-exchange column chromatography, or adsorption column chromatography using activated carbon or the like, and then freeze-dried or crystallized to obtain the desired compound of free acid type. If necessary, the desired compound can also be obtained as a salt-type compound.

(3) Use of the Compounds of the Invention

The compounds of the present invention have excellent antiviral activity as shown in Test Examples, which will be described later. Therefore, the compositions of the present invention comprising these compounds as active ingredients are useful in the treatment of viral infections. Objective viruses are, for instance, herpes simplex virus 1 (HSV-1), herpes simplex virus 2 (HSV-2), human cytomegalovirus (HCMV) and varicella-zoster virus (VZV) belonging to the family her-

pesviridae.

The dose of the compounds of the present invention varies depending upon the age and body weight of the recipient, the disease, the severity of the condition of the recipient, the permissibility, and the route for administration; and it is to be properly decided by taking all of these factors into consideration. In general, however, the dose is selected from the range of 0.001 to 1,000 mg per kilogram body weight, preferably from the range of 0.01 to 100 mg per kilogram body weight. The desired dose is administered at one time. Alternatively, the desired dose is divided into sub-doses, and the sub-doses are administered several times per day.

The compounds can be administered via any route; they can be administered orally, parenterally, rectally or topically. When the compounds of the present invention are made into formulations, carriers, excipients and other additives which are usually used for conventional formulations can be used. Examples of the carriers include solid carriers such as lactose, kaolin, sucrose, crystalline cellulose, corn starch, talc, agar, pectin, stearic acid, magnesium stearate, lecithin and sodium chloride, and liquid carriers such as glycerin, peanut oil, polyvinyl pyrrolidone, olive oil, ethanol, benzyl alcohol, propylene glycol and water.

The formulations may be presented in any form. For instance, when a solid carrier is used, the form includes tablet, powder, granule, capsule, suppository and troche; and, when a liquid carrier is used, the form includes syrup, emulsion, soft gelatin capsule, cream, gel, paste, spray and injection.

EXAMPLES

The present invention will now be specifically explained by referring to the following Synthesis Examples, Test Examples and Formulation Examples. However, the present invention is not limited by these examples in any way.

Synthesis Example 1

Synthesis of 9-(2-deoxy-2-fluoro-4-thio-beta-D-arabinofuranosyl)adenine (B = adenine and R = H in formula [I])

(1) Synthesis of 1,4-anhydro-5-O-t-butyldiphenylsilyl-3-O-benzyl-2-deoxy-2-fluoro-4-thio-D-arabitol ($R_1 = \text{Bn}$ and $R_2 = \text{TBDPS}$ in formula [III])

37.7 g of 1,4-anhydro-3-O-benzyl-4-thio-D-arabitol ($R_1 = \text{Bn}$ in formula [II]) and 11.3 g of imidazole were dissolved in 400 ml of DMF. To this solution was added 42.9 ml of t-butyldiphenylsilyl chloride (TBDPSCI) with ice-cooling, and the mixture was stirred at 0°C overnight under a stream of argon. Water was added to the mixture, and the resulting mixture was stirred at room temperature for a while. Thereafter, the solvent was distilled off, and the residue was partitioned between ethyl acetate and water. The organic layer was further washed with water, and dried. The solvent was concentrated, and the residue was purified by silica gel column chromatography. The fractions eluted with 2-10% ethyl acetate/n-hexane were concentrated to obtain 53.4 g (yield 71%) of the 5-silyl derivative.

5.06 g of the 5-silyl derivative was dissolved in 25 ml of methylene chloride. To this solution, 25 ml of a methylene chloride solution containing 2.26 ml of diethylaminosulfur trifluoride (DAST) was added dropwise at -78°C under a stream of argon, and the mixture was stirred at -78°C for 3 hours. The reaction was terminated by adding a saturated aqueous solution of sodium hydrogencarbonate, and the reaction solution was extracted with chloroform. The organic layer was dried over anhydrous sodium sulfate, and the solvent was distilled off. The residue was purified by silica gel column chromatography. The fractions eluted with 2-4% ethyl acetate/n-hexane were concentrated to obtain 2.78 g (yield 55%) of the desired product.

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ 7.71-7.63 (4H, m, C_6H_5), 7.71-7.63 (11H, m, C_6H_5), 5.18 (1H, dq, H-2, $J=3.5$, 50.5Hz), 4.64 (1H, d, $\text{C}_6\text{H}_5\text{CH}_2$, $J=12.0\text{Hz}$), 4.60 (1H, d, $\text{C}_6\text{H}_5\text{CH}_2$, $J=12.0\text{Hz}$), 4.35 (1H, dt, H-3, $J=2.9$, 11.2Hz), 3.76 (1H, t, H-5a, $J=9.5\text{Hz}$), 3.66 (1H, ddd, H-5b, $J=2.0$, 6.1, 10.5Hz), 3.57-3.53 (1H, m, H-4), 3.19 (1H, ddd, H-1a, $J=4.4$, 12.2, 30.3Hz), 3.06 (1H, ddd, H-1b, $J=3.4$, 12.2, 18.1Hz), 1.05 (9H, s, tBu)

(2) Synthesis of 1-O-acetyl-5-O-t-butyldiphenylsilyl-3-O-benzyl-2-deoxy-2-fluoro-4-thio-D-arabinose ($R_1 = \text{Bn}$, $R_2 = \text{TBDPS}$ and $R_3 = \text{Ac}$ in formula [IV])

2.58 g of 1,4-anhydro-5-O-t-butyldiphenylsilyl-3-O-benzyl-2-deoxy-2-fluoro-4-thio-D-arabitol was dissolved in 15 ml of methylene chloride, and the solution was cooled to -78°C under a stream of argon. To this solution, a solution of 1.15 g of 80% m-chloroperbenzoic acid in methylene chloride was added dropwise, and the mixture was stirred for 30 minutes. Thereafter, the reaction was terminated by adding a saturated sodium hydrogencarbonate solution. The reaction solution was allowed to warm up to room temperature, and extracted with chloroform. The organic layer was dried, and the solvent was distilled off. The residue was dissolved in 30 ml of acetic anhydride, and the temperature of the solution

was maintained at 110°C for 2 hours under a stream of argon. After the solution was cooled to room temperature, the solvent was distilled off under reduced pressure. The residue was dissolved in ethyl acetate, and the solution was partitioned among water, a saturated aqueous solution of sodium hydrogencarbonate, and a saturated saline solution, and then dried over anhydrous sodium sulfate. The solution was concentrated under reduced pressure, and the residue was purified by silica gel column chromatography. The fractions eluted with 5-10% ethyl acetate/n-hexane were concentrated to obtain 1.57 g (yield 54%) of the desired product.

¹H-NMR (CDCl₃) δ 7.68-7.62 (4H, m, C₆H₅), 7.46-7.25 (11H, m, C₆H₅), 6.06 (1H, d, H-1, J=4.4Hz), 5.11 (1H, ddd, H-2, J=4.4, 8.3, 51.0Hz), 4.78 (1H, d, C₆H₅CH₂, J=11.7Hz), 4.60 (1H, d, C₆H₅CH₂, J=11.7Hz), 4.38 (1H, ddd, H-3, J=7.3, 8.3, 11.7Hz), 3.81 (1H, dd, H-5a, J=4.4, 10.5Hz), 3.74 (1H, dd, H-5b, J=5.9, 10.5Hz), 3.34 (1H, ddd, H-4, J=4.4, 5.9, 7.3Hz), 2.05 (3H, s, Ac), 1.07 (9H, s, tBu)

(3) Synthesis of 9-(2-deoxy-2-fluoro-4-thio-beta-D-arabinofuranosyl)adenine (B = adenine and R = H in formula [I])

1.60 g of 1-O-acetyl-5-O-t-butyldiphenylsilyl-3-O-benzyl-2-deoxy-2-fluoro-4-thio-D-arabinose was dissolved in 26 ml of acetonitrile in the presence of molecular sieves 4A (2.70 g). To this solution were added 0.77 g of adenine and 2.20 ml of trimethylsilyl-trifluoromethanesulfonate (TMSOTf), and the mixture was stirred at 0°C for 30 minutes. To this was added a saturated aqueous solution of sodium hydrogencarbonate. After removing insolubles by filtration, the mixture was extracted twice with chloroform. The organic layer was dried. The filtrate was concentrated under reduced pressure, and the residue was purified by silica gel column chromatography. The fractions eluted with 1% methanol/chloroform were collected, and concentrated to obtain 0.44 g (yield 23%) of the desired protected product.

290 mg of the protected product was dissolved in 9 ml of methylene chloride. To this solution, 2.40 ml of 1 M trichloroborane was added dropwise at -78°C under a stream of argon. The temperature of the mixture was raised to 0°C, and the mixture was stirred for 30 minutes. 2.5 ml of methanol was added to the mixture at -78°C, and the resulting mixture was stirred for a further 30 minutes. The mixture was allowed to warm up to room temperature, and a saturated aqueous solution of sodium hydrogencarbonate was added to the mixture. The solvent was distilled off. The residue was azeotropically distilled with methanol three times. The residue was then dissolved in 10 ml of DMF. To this solution was added 320 mg of ammonium fluoride, and the mixture was stirred at room temperature overnight. The solvent was distilled off, and the residue was successively purified by silica gel column chromatography and ODS reverse phase column chromatography to obtain 28 mg (yield 21%) of the title compound.

¹H-NMR (DMSO-d₆) δ 8.50 (1H, s, 8-H), 8.14 (1H, s, 2-H), 7.31 (2H, brs, NH₂), 6.23 (1H, t, 1'-H, J=5.9Hz), 5.96 (1H, d, 3'-OH, J=5.9Hz), 5.35 (1H, t, 5'-OH, J=5.4Hz), 5.13 (1H, ddd, 2'-H, J=5.9, 7.8 and 50.8Hz), 4.46-4.42 (1H, m, 3'-H), 3.83-3.75 (2H, m, 5'-H), 3.28-3.24 (1H, m, 4'-H)

Synthesis Example 2

Synthesis of 9-(2-deoxy-2-fluoro-4-thio-beta-D-arabinofuranosyl)-2,6-diaminopurine (B = 2,6-diaminopurine and R = H in formula [I])

The title compound was synthesized in the same manner as in (3) of the above Synthesis Example 1, provided that 2,6-diaminopurine was used instead of adenine.

¹H-NMR (DMSO-d₆) δ 8.04 (1H, s, 8-H), 6.75 (2H, brs, NH₂), 6.06 (1H, dd, 1'-H, J=5.9 and 9.3Hz), 5.97 (1H, d, 3'-OH, J=5.4Hz), 5.87 (2H, brs, NH₂), 5.32 (1H, brs, 5'-OH), 5.07 (1H, dt, 2'-H, J=5.9 and 49.8Hz), 4.45-4.41 (1H, m, 3'-H), 3.81-3.69 (2H, m, 5'-H), 3.28-3.24 (1H, m, 4'-H)

Synthesis Example 3

Synthesis of 9-(2-deoxy-2-fluoro-4-thio-beta-D-arabinofuranosyl)guanine (B = guanine and R = H in formula [I])

114 mg of the crude anomer mixture of 9-(2-deoxy-2-fluoro-4-thio-D-arabinofuranosyl)-2,6-diaminopurine (beta/alpha = 1.55) obtained in Synthesis Example 2 was suspended in 25 ml of tris hydrochloric acid buffer solution (pH = 7.0). To this suspension was added 0.43 ml (100 units) of adenosine deaminase, and the mixture was stirred at room temperature for 6 hours. The reaction solution was purified by ODS reverse phase column chromatography to obtain 48 mg (yield 48%) of the title compound.

¹H-NMR (DMSO-d₆) δ 10.64 (1H, brs, NH), 8.08 (1H, s, 8-H), 6.52 (2H, brs, NH₂), 5.99-5.96 (2H, m, 1'-H and 3'-

OH), 5.32 (1H, t, 5'-OH, J=5.4Hz), 5.07 (1H, ddd, 2'-H, J=5.9, 7.3 and 50.8Hz), 4.39-4.35 (1H, m, 3'-H), 3.80-3.68 (2H, m, 5'-H), 3.26-3.21 (1H, m, 4'-H)

Synthesis Example 4

5

Synthesis of 9-(2-deoxy-2-fluoro-4-thio-beta-D-arabinofuranosyl)-2-chloroadenine (B = 2-chloroadenine and R = H in formula [I])

440 mg of 1-O-acetyl-5-O-t-butyl-diphenylsilyl--3-O-benzyl-2-deoxy-2-fluoro-4-thio-D-arabinose was dissolved in 6
10 ml of acetonitrile in the presence of molecular sieves 4A (730 mg). To this solution were added 304 mg of 2,6-dichloro-
purine and 0.56 ml of trimethylsilyltrifluoromethanesulfonate (TMSOTf), and the mixture was stirred at room tempera-
ture for 1 hour, and at 60°C for 5 hours. To this was added a saturated aqueous solution of sodium hydrogencarbonate.
After removing insolubles by filtration, the mixture was extracted twice with chloroform. The organic layer was dried. The
filtrate was concentrated under reduced pressure, and the residue was purified by silica gel column chromatography.
15 The fractions eluted with 10% ethyl acetate/n-hexane were collected, and concentrated to obtain 370 mg (yield 68%) of
9-(3-O-benzyl-5-O-t-butyl-diphenylsilyl-2-deoxy-2-fluoro-4-thio-D-arabinofuranosyl)-2,6-dichloropurine.

360 mg of the 9-(3-O-benzyl-5-O-t-butyl-diphenylsilyl-2-deoxy-2-fluoro-4-thio-D-arabinofuranosyl)-2,6-dichloropu-
rine was dissolved in 11 ml of methylene chloride. To this solution, 2.70 ml of 1 M trichloroborane was added dropwise
at -78°C under a stream of argon. The mixture was allowed to warm up to room temperature, and then stirred for 30
20 minutes. To this was added 1.0 ml of methanol at -78°C. The resulting mixture was stirred for a further 30 minutes, and
then allowed to warm up to room temperature. To this mixture was added a saturated aqueous solution of sodium
hydrogencarbonate. The solvent was distilled off, and the residue was azeotropically distilled with methanol three times.
The residue was then separated into the alpha-anomer and the beta-anomer by silica gel column chromatography. 115
mg of the beta-anomer obtained was dissolved in 20 ml of a saturated ammonia/ethanol solution, and allowed to react
25 in a sealed tube at 80°C for 7 hours. The solvent was distilled off, and the residue was dissolved in 5 ml of DMF. To this
solution was added 137 mg of ammonium fluoride, and the mixture was stirred at room temperature overnight. The sol-
vent was distilled off, and the residue was purified by silica gel column chromatography to obtain 51 mg (yield 31%) of
the title compound.

30 ¹H-NMR (DMSO-d₆) δ 8.55 (1H, s, 8-H), 7.86 (2H, brs, NH₂), 6.14 (1H, t, 1'-H, J=5.9Hz), 5.97 (1H, d, 3'-OH,
J=5.9Hz), 5.35 (1H, t, 5'-OH, J=4.9Hz), 5.16 (1H, ddd, 2'-H, J=5.9, 7.8 and 50.3Hz), 4.43-4.39 (1H, m, 3'-H), 3.85-
3.78 (2H, m, 5'-H), 3.27-3.23 (1H, m, 4'-H)

Synthesis Example 5

35

Synthesis of 9-(2-deoxy-2-fluoro-4-thio-beta-D-arabinofuranosyl)-2-fluoroadenine (B = 2-fluoroadenine and R = H in formula [I])

2.01 g of 1-O-acetyl-5-O-t-butyl-diphenylsilyl--3-O-benzyl-2-deoxy-2-fluoro-4-thio-D-arabinose was dissolved in 27
40 ml of acetonitrile in the presence of molecular sieves 4A (3.30 g). To this solution were added 1.07 g of 2,6-diaminopu-
rine and 2.70 ml of trimethylsilyltrifluoromethanesulfonate (TMSOTf), and the mixture was stirred at 0°C for 30 minutes,
and at room temperature for 2 hours. To this mixture was added a saturated aqueous solution of sodium hydrogencar-
bonate. After removing insolubles by filtration, the mixture was extracted twice with chloroform. The organic layer was
dried. The filtrate was concentrated under reduced pressure, and the residue was purified by silica gel column chroma-
45 tography. The fractions eluted with 2% methanol/chloroform were collected, and concentrated to obtain 687 mg of 9-(3-
O-benzyl-5-O-t-butyl-diphenylsilyl-2-deoxy-2-fluoro-4-thio-D-arabinofuranosyl)-2,6-diaminopurine. This product was
dissolved in 24 ml of DMF. To this solution was added 756 mg of ammonium fluoride, and the mixture was stirred at
room temperature overnight. The solvent was distilled off, and the residue was purified by silica gel column chromatog-
raphy. The crystals obtained were suspended in 21 ml of acetonitrile. To this suspension were added 0.19 ml of acetic
50 anhydride and 0.30 ml of triethylamine, and the mixture was stirred at room temperature overnight. 5.0 ml of methanol
was added to the reaction solution, and the mixture was stirred for 30 minutes. Thereafter, the solvent was distilled off,
and the residue was purified by silica gel column chromatography to obtain 393 mg of 9-(5-O-acetyl-3-O-benzyl-2-
deoxy-2-fluoro 4-thio-D-arabinofuranosyl)-2,6-diaminopurine. 9-(5-O-Acetyl-3-O-benzyl-2-deoxy-2-fluoro-4-thio-D-a-
rabinofuranosyl)-2,6-diaminopurine was dissolved in 4.30 ml of a 60% hydrogen fluoride/pyridine solution. To this solu-
55 tion, 0.13 ml of t-butyl nitrite was added dropwise at 0°C. After the mixture was stirred for 30 minutes, ice water was
added to the reaction solution. This mixture was extracted twice with chloroform. The organic layer was dried, and the
solvent was distilled off. The residue was purified by silica gel column chromatography. The fractions eluted with 2%
methanol/chloroform were collected, and concentrated to obtain 276 mg (yield 14%) of the desired protected product.

206 mg of this protected product was suspended in 7.0 ml of methanol. To this suspension was added 5.0 ml of concentrated aqueous ammonia, and the mixture was stirred at room temperature for 4 hours. The solvent was distilled off under reduced pressure, and the residue was separated into the alpha-anomer and the beta-anomer by ODS reverse phase column chromatography. Thus, 84 mg of the beta-anomer was obtained. This anomer was suspended in 4.0 ml of methylene chloride, and 0.90 ml of chlorotrimethylsilane was added to the suspension. The mixture was stirred at room temperature for 10 minutes. To this was added dropwise 1.03 ml of 1 M trichloroborane at -78°C under a stream of argon. The temperature of the mixture was then raised to room temperature, and the mixture was stirred for 1 hour. 2.0 ml of methanol was added to the mixture at -78°C, and the resulting mixture was stirred for a further 30 minutes. The mixture was allowed to warm up to room temperature, and concentrated aqueous ammonia was added to the mixture. The solvent was distilled off, and the residue was purified by silica gel column chromatography. The fractions eluted with 20% methanol/chloroform were collected, and concentrated to obtain 36 mg (yield 26%) of the title compound.

¹H-NMR (DMSO-d₆) δ 8.51 (1H, s, 8-H), 7.87 (2H, brs, NH₂), 6.10 (1H, t, 1'-H, J=5.9Hz), 5.97 (1H, brs, 3'-OH), 5.35 (1H, brt, 5'-OH, J=4.9Hz), 5.15 (1H, ddd, 2'-H, J=5.9, 7.8 and 50.3Hz), 4.44-4.37 (1H, m, 3'-H), 3.84-3.77 (2H, m, 5'-H), 3.27-3.23 (1H, m, 4'-H)

Synthesis Example 6

Synthesis of 9-(2-deoxy-2-fluoro-4-thio-beta-D-arabinofuranosyl)-2,6-dichloropurine (B = 2,6-dichloropurine and R = H in formula [I])

(1) Synthesis of 1,2:5,6-di-O-isopropylidene-3-deoxy-3-fluoro-alpha-D-glucofuranose (formula [VI])

20.0 g (76.84 mmol) of 1,2:5,6-di-O-isopropylidene-alpha-D-allofuranose (formula [V]) was dissolved in 240 ml of CH₂Cl₂. To this solution was added dropwise 12.35 ml (153.68 mmol) of SO₂Cl₂ at 0°C, and the mixture was stirred for 15 minutes. Thereafter, 52.3 g (768.40 mmol) of imidazole was slowly added to the mixture with ice-cooling, and the resulting mixture was stirred at room temperature for 2 to 3 hours. After the reaction was terminated by adding saturated NaHCO₃, the reaction solution was extracted with CHCl₃. The organic layer was dried over Na₂SO₄, and the solvent was distilled off. The residue was dissolved in 240 ml of 2-methoxyethanol. To this solution was added 44.64 g (768.40 mmol) of potassium fluoride (spray-dried product), and the mixture was heated under reflux at 130°C for 4 to 6 hours. After the mixture was allowed to cool, the solvent was distilled off, and the residue was partitioned between ethyl acetate and water. The organic layer was successively washed with H₂O x 2 and brine, dried over Na₂SO₄, and then evaporated to dryness under reduced pressure. Purification by column chromatography on silica gel (400 cc, 5-20% AcOEt (in hexane)) gave 12.98 g (49.49 mmol) of the desired product in a yield of 64%.

¹H-NMR (CDCl₃) δ ppm 5.95 (d, 1H, H-1, J_{1,2}=3.9Hz), 5.01 (dd, 1H, H-3, J_{3,4}=2.2Hz, J_{3,F}=49.8Hz), 4.70 (dd, 1H, H-2, J_{1,2}=3.9Hz, J_{2,F}=10.7Hz), 4.29 (1H, ddd, H-5, J_{4,5}=8.3Hz, J_{5,6a}=5.9Hz, J_{5,6b}=4.9Hz), 4.12 (dd, 1H, H-6a, J_{5,6a}=5.9Hz, J_{6a,b}=8.8Hz), 4.11 (ddd, 1H, H-4, J_{3,4}=2.2Hz, J_{4,5}=8.3Hz, J_{4,F}=29.0Hz), 4.03 (dd, 1H, H-6b, J_{5,6b}=4.9Hz, J_{6a,b}=8.8Hz), 1.50, 1.45, 1.37, 1.33 (s, each 3H, ipr)

(2) Synthesis of 5,6-di-S,O-acetyl-1,2-O-isopropylidene-5-thio-alpha-D-glucofuranose (R₄ = R₅ = Ac in formula [VIII])

10.9 g (41.56 mmol) of 1,2:5,6-di-O-isopropylidene-3-deoxy-3-fluoro-alpha-D-glucofuranose was dissolved in 40 ml of THF and 40 ml of 2 N HCl, and the solution was stirred at room temperature. After the reaction was completed, the reaction solution was neutralized with NaHCO₃, and the resultant was filtered to remove insolubles. The filtrate was extracted with CHCl₃. The organic layer was washed with brine, and dried over Na₂SO₄. The solvent was distilled off, and the residue was purified by column chromatography on silica gel (320 cc, 3-6% MeOH (in CHCl₃)) to obtain 8.02 g (36.09 mmol) of 1,2-O-isopropylidene-3-deoxy-3-fluoro-alpha-D-glucofuranose. 1,2-O-isopropylidene-3-deoxy-3-fluoro-alpha-D-glucofuranose was dissolved in 120 ml of CH₂Cl₂. 3.20 ml of pyridine and 44 mg of DMAP were added to the solution. To this mixture was added dropwise a solution of 4.61 ml (39.68 mmol) of BzCl in 50 ml of CH₂Cl₂ at -5°C. Reaction was carried out at -5°C for 5 hours. After the completion of the reaction was confirmed, MeOH was added to the reaction solution, and the mixture was stirred for 1 hour to terminate the reaction. The resultant was partitioned between CHCl₃ and H₂O. The organic layer was successively washed with 0.5 N HCl x 2, saturated NaHCO₃ x 2, and brine, and then dried over Na₂SO₄. The solvent was distilled off, and the residue was purified by column chromatography on silica gel (320 cc, 10-25% AcOEt (in hexane)) to obtain 9.33 g (28.59 mmol) of 6-O-benzoyl-1,2-O-isopropylidene-3-deoxy-3-fluoro-alpha-D-glucofuranose in a yield of 79%.

¹H-NMR (CDCl₃) δ ppm 8.09-8.05 (m, 2H, Bz), 7.60-7.42 (m, 3H, Bz), 5.99 (d, 1H, H-1, J_{1,2}=3.9Hz), 5.14 (dd, 1H,

H-3, $J_{3,4}=2.0\text{Hz}$, $J_{3,F}=49.8\text{Hz}$), 4.74-4.70 (m, 2H, H-2, H-6a), 4.46 (dd, 1H, H-6b, $J_{5,6b}=5.9\text{Hz}$, $J_{6a,b}=12.2\text{Hz}$), 4.27-4.18 (m, 2H, H-4, H-5), 2.83 (br, 1H, 5-OH), 1.47, 1.33 (s, each 3H, ipr)

9.33 g (28.59 mmol) of 6-O-benzoyl-1,2-O-isopropylidene-3-deoxy-3-fluoro- α -D-glucopyranose was dissolved in 80 ml of pyridine. To this solution was added dropwise 3.32 ml (42.88 mmol) of MsCl at 0°C, and the mixture was stirred at room temperature overnight. The reaction was terminated by adding H₂O at 0°C and the reaction solution was extracted with ethyl acetate. The organic layer was washed with saturated NaHCO₃ and brine, and then dried over Na₂SO₄. The solvent was distilled off. To the residue were successively added 80 ml of MeOH and 7 ml (34.31 mmol) of 28% NaOCH₃, and the mixture was stirred at room temperature for 45 minutes. The mixture was then partitioned between ethyl acetate and water. The organic layer was dried over Na₂SO₄, and purified by column chromatography on silica gel (220 cc, AcOEt:hexane = (5:1) to (1:1)) to obtain 3.82 g (65%) of 5,6-anhydro-1,2-O-isopropylidene-3-deoxy-3-fluoro- α -L-idofuranose, and 1.404 g (16%) of 1,2-O-isopropylidene-3-deoxy-3-fluoro-5-O-methanesulfonyl- α -D-glucopyranose. 1,2-O-isopropylidene-3-deoxy-3-fluoro-5-O-methanesulfonyl- α -D-glucopyranose was dissolved in 10 ml of THF, and treated with 206 mg (5.14 mmol) of 60% NaH to convert it into 5,6-anhydro-1,2-O-isopropylidene-3-deoxy-3-fluoro- α -L-idofuranose.

¹H-NMR (CDCl₃) δ ppm 6.04 (d, 1H, H-1, $J_{1,2}=3.9\text{Hz}$), 4.96 (dd, 1H, H-3, $J_{3,4}=2.4\text{Hz}$, $J_{3,F}=50.3\text{Hz}$), 4.71 (dd, 1H, H-2, $J_{1,2}=3.9\text{Hz}$, $J_{2,F}=11.2\text{Hz}$), 3.89 (ddd, 1H, H-4, $J_{3,4}=2.4\text{Hz}$, $J_{4,5}=5.9$, $J_{4,F}=30.3\text{Hz}$), 3.22 (1H, ddd, H-5, $J_{4,5}=5.9\text{Hz}$, $J_{5,6a}=4.4\text{Hz}$, $J_{5,6b}=2.9\text{Hz}$), 2.88 (t, 1H, H-6a, $J=4.4\text{Hz}$), 2.71 (dd, 1H, H-6b, $J_{5,6b}=2.9\text{Hz}$, $J_{6a,b}=4.9\text{Hz}$), 1.47, 1.33 (s, each 3H, ipr)

3.82 g (18.7 mmol) of 5,6-anhydro-1,2-O-isopropylidene-3-deoxy-3-fluoro- α -L-idofuranose was dissolved in 90 ml of MeOH. To this solution was added 1.42 g (18.7 mmol) of thiourea, and the mixture was heated under reflux for 7 hours. After the mixture was allowed to cool, the solvent was distilled off. The residue was partitioned between H₂O and CHCl₃, and the organic layer was dried over Na₂SO₄. The solvent was distilled off to obtain, as a residue (3.99 g), 5,6-anhydro-1,2-O-isopropylidene-3-deoxy-3-fluoro-5-thio- α -D-glucopyranose. Further, from 5,6-anhydro-1,2-O-isopropylidene-3-deoxy-3-fluoro- α -L-idofuranose (crude) which was obtained by treating 1,2-O-isopropylidene-3-deoxy-3-fluoro-5-O-methanesulfonyl- α -D-glucopyranose with NaH, 5,6-anhydro-1,2-O-isopropylidene-3-deoxy-3-fluoro-5-thio- α -D-glucopyranose was obtained as a residue (0.87 g) in the same manner as the above. The combined residues were dissolved in a mixture of 15 ml of AcOH and 75 ml of Ac₂O. To this solution was added 3.46 g (35.29 mmol) of potassium acetate, and the mixture was heated under reflux for 20 hours. After the mixture was allowed to cool, the solvent was distilled off. The residue was suspended in ethyl acetate, and the suspension was filtered to remove insolubles. The filtrate was sequentially washed with H₂O x 2, saturated NaHCO₃ and brine, dried over Na₂SO₄, and evaporated to dryness under reduced pressure. The residue was purified by column chromatography on silica gel (220 cc, 15-20% AcOEt (in hexane)). Thus, 5.2 g (16.13 mmol) of 5,6-di-S,O-acetyl-1,2-O-isopropylidene-5-thio- α -D-glucopyranose was obtained in a yield of 73%. Melting Point: 88.9 - 90.4°C

Elemental Analysis (for C ₁₃ H ₁₉ O ₆ SF)		
Calculated	C: 48.44	H: 5.94
Found	C: 48.49	H: 6.00

Calculated	C: 48.44	H: 5.94
Found	C: 48.49	H: 6.00

45

¹H-NMR (CDCl₃) δ ppm 5.98 (d, 1H, H-1, $J_{1,2}=3.9\text{Hz}$), 4.96 (dd, 1H, H-3, $J_{3,F}=49.6\text{Hz}$), 4.68 (dd, 1H, H-2, $J_{1,2}=3.9\text{Hz}$), 4.46-4.37 (m, 3H, H-6a, H-6b H-4), 4.11 (dt, 1H, H-5), 2.36 (s, 3H, Ac), 2.06 (s, 3H, Ac), 1.49 (s, 3H, ipr), 1.33 (s, 3H, ipr)

(3) Synthesis of methyl 3,5-di-O-benzoyl-2-deoxy-2-fluoro-4-thio-D-arabinofuranose ($R_6=R_7$ -Bz and R_8 =Me in formula [VIII])

100 mg (0.31 mmol) of 5,6-di-S,O-acetyl-1,2-O-isopropylidene-5-thio- α -D-glucopyranose was dissolved in 90% trifluoroacetic acid (1.5 ml). The solution was stirred at 0°C for 4 hours, and then diluted with ethyl acetate. The organic layer was sequentially washed with H₂O x 3, saturated NaHCO₃ x 2 and brine, and dried over Na₂SO₄. The solvent was distilled off, and the residue was dissolved in 0.8 ml of MeOH. To this solution was added 0.8 ml of an aqueous solution

of 58.4 mg (0.27 mmol) of NaIO_4 at room temperature. After the reaction was completed, glycerin was added to the reaction solution, and the mixture was stirred for 30 minutes to terminate the reaction. Insolubles were removed by filtration. The filtrate was evaporated to dryness under reduced pressure, and the residue was partitioned between H_2O x 3 and CHCl_3 . The organic layer was washed with brine, and dried over Na_2SO_4 . The solvent was distilled off, and the residue was dissolved in 2 ml of 5% HCl/MeOH . The solution was heated under reflux for 4 hours, and then neutralized with NaHCO_3 . Insolubles were filtered off, and the solvent was distilled off. The residue was dissolved in 2 ml of pyridine. To this solution was added 150 microliters (1.29 mmol) of BzCl at 0°C , and the mixture was stirred at room temperature for 2.5 hours. The reaction was terminated by adding saturated NaHCO_3 , and the reaction solution was extracted with CHCl_3 . The organic layer was successively washed with 0.5 N HCl , saturated NaHCO_3 and brine, dried over Na_2SO_4 , and evaporated to dryness under reduced pressure. The residue was purified by flash column chromatography on silica gel (15 cc, 5% AcOEt (in hexane)). Thus, 28 mg of the alpha-anomer, 24.5 mg of the beta-anomer, and 13.1 mg of a mixture of the alpha- and beta-anomers were respectively obtained (total 54%). (alpha-anomer)

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ ppm 8.03-7.99 (4H, m, Bz), 7.60-7.35 (6H, m, Bz), 5.77 (1H, dt, H-1), 5.28 (1H, dd, H-2, $J_{2,F}=48.3\text{Hz}$, 5.24 (1H, d, H-3, $J_{2,3}=2.0\text{Hz}$), 4.61-4.47 (2H, m, H-5a, 5b), 4.05 (1H, dt, H-4), 3.42 (3H, s, OMe) (beta-anomer)

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ ppm 8.04-8.02 (4H, m, Bz), 7.59-7.31 (6H, m, Bz), 6.09 (1H, dt, H-1, $J_{1,2}=3.9\text{Hz}$), 5.35 (1H, ddd, H-2, $J_{2,F}=51.5\text{Hz}$), 4.96 (1H, d, H-3), 4.57 (2H, ddd, H-5a, 5b, $J_{5a,b}=11.2\text{Hz}$, $J_{5a,4}=J_{4,5b}=6.4\text{Hz}$), 3.69 (1H, dt, H-4, $J_{4,5a}=J_{4,5b}=6.4\text{Hz}$), 3.43 (3H, s, OMe)

(4) 9-(2-deoxy-2-fluoro-4-thio-beta-D-arabinofuranosyl)-2,6-dichloronopurine (B = 2,6-dichloropurine and R = H in formula [I])

24.2 mg (0.062 mmol) of methyl 3,5-di-O-benzoyl-2-deoxy-2-fluoro-4-thio-alpha- and -beta-D-arabinofuranose was dissolved in a mixture of 2 ml of AcOH and 2 ml of Ac_2O . To this solution was added 0.25 ml of conc. sulfuric acid at 0°C , and the mixture was stirred at room temperature for 1 hour. The mixture was neutralized with 4.5 g of NaOAc , and then partitioned between CH_2Cl_2 and H_2O . The organic layer was dried over Na_2SO_4 . The solvent was distilled off, and the residue was purified by column chromatography on silica gel (10cc, 10% AcOEt (in hexane)). Thus, 23.5 mg (0.056 mmol) of 1-O-acetyl-3,5-di-O-benzoyl-2-deoxy-2-fluoro-4-thio-D-arabinofuranose was obtained as a mixture of the alpha- and beta- anomers in a yield of 91%.

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ ppm 8.06-7.94 (m, 4H, Bz), 7.62-7.30 (m, 6H, Bz), 6.24 (dd, 0.42H, H-1 α , $J_{1,2}=2.0\text{Hz}$, $J_{1,F}=14.2\text{Hz}$), 6.18 (d, 0.58H, H-1 β , $J_{1,2}=4.4\text{Hz}$), 6.08 (ddd, 0.58H, H-3 β , $J_{3,4}=7.3\text{Hz}$, $J_{2,3}=9.3\text{Hz}$, $J_{3,F}=11.7\text{Hz}$), 5.85 (dt, 0.42H, H-3 α , $J_{2,3}=J_{3,4}=3.9\text{Hz}$, $J_{3,F}=12.2\text{Hz}$), 5.39 (ddd, 0.42H, H-2 α , $J_{1,2}=2.0\text{Hz}$, $J_{2,3}=3.9\text{Hz}$, $J_{2,F}=47.9\text{Hz}$), 5.31 (ddd, 0.58H, H-2 β , $J_{1,2}=4.4\text{Hz}$, $J_{2,3}=9.3\text{Hz}$, $J_{2,F}=50.8\text{Hz}$), 4.69 (dd, 0.58H, H-5 β a, $J_{4,5a}=6.4\text{Hz}$, $J_{5a,b}=11.2\text{Hz}$), 4.55 (dd, 0.42H, H-5 α a, $J_{4,5a}=7.8\text{Hz}$, $J_{5a,b}=11.7\text{Hz}$), 4.49 (dd, 0.58H, H-5 β b, $J_{4,5b}=6.4\text{Hz}$, $J_{5a,b}=11.2\text{Hz}$), 4.47 (dd, 0.42H, H-5 α b, $J_{4,5b}=1.5\text{Hz}$, $J_{5a,b}=11.7\text{Hz}$), 4.11 (ddd, 0.42H, H-4 α , $J_{3,4}=4.4\text{Hz}$, $J_{4,5a}=7.8\text{Hz}$, $J_{4,5b}=1.5\text{Hz}$), 3.74 (q, 0.58H, H-4 β , $J_{3,4}=J_{4,5a}=J_{4,5b}=6.4\text{Hz}$), 2.12, 2.11 (s, total 3H, Ac)

150 mg (0.358 mmol) of 1-O-acetyl-3, 5-di-O-benzoyl-2-deoxy-2-fluoro-4-thio-D-arabinofuranose was dissolved in 1.5 ml of CH_2Cl_2 . To this solution was added 0.3 ml of 30% $\text{HBr}/\text{acetic acid}$, and the mixture was stirred at room temperature for 20 minutes. The reaction was terminated by adding 15 ml of ice water, and the reaction solution was extracted with CH_2Cl_2 . The organic layer was washed with saturated NaHCO_3 and ice water, dried over Na_2SO_4 , and then evaporated to dryness at a temperature of 30°C or lower under reduced pressure to obtain the 1-bromo derivative as an oil.

23.5 mg (0.12 mmol) of 2,6-dichloropurine was dissolved in 1.0 ml of acetonitrile. To this solution was added 5.0 mg (0.13 mmol) of 60% NaH at room temperature, and the mixture was stirred at room temperature for 1 hour. To this reaction solution, a solution of 23.5 mg (0.12 mmol) of the bromo derivative in 1.0 ml of acetonitrile was added, and the mixture was stirred at room temperature overnight, and then at 50°C another overnight by heating. The reaction was terminated, and the reaction solution was filtered through Celite. The mother liquor was concentrated to dryness, and the residue was purified by flash column chromatography on silica gel (20 cc, $\text{CHCl}_3:\text{MeOH} = 10:1$). Thus, 15.3 mg (0.03 mmol) of the title compound was obtained as a mixture of the alpha- and beta- anomers in a yield of 25%.

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ ppm 8.61 (d, 0.7H, H-8 β , $J = 2.9\text{Hz}$), 8.60 (s, 0.3H, H-8 α), 8.10-8.06 (m, 4H, Bz), 7.76-7.41 (m, 6H, Bz), 6.71 (dd, 0.7H, H-1' β , $J_{1',2'}=3.9\text{Hz}$, $J_{1',F}=20.0\text{Hz}$), 6.42 (d, 0.3H, H-1' α , $J_{1',2'}=2.9\text{Hz}$, $J_{1',F}=13.7\text{Hz}$), 6.09 (dt, 0.7H, H-3' β , $J=2.9$, 9.3Hz), 5.98 (dt, 0.3H, H-3' α , $J=3.4$, 12.2Hz), 5.76 (dt, 0.3H α , H-2', $J=2.9$, 47.4Hz), 5.40 (dt, 0.7H, H-2' β , $J=2.9$, 49.3Hz), 4.79 (d, 1.4H, H-5' β , $J=7.8\text{Hz}$), 4.69 (dd, 0.3H, H-5' α a, $J=7.6$, 11.5Hz), 4.62 (dd, 0.3H,

H-5'αb, J=6.6, 11.5Hz), 4.46-4.42 (m, 0.3H, H-4'α), 4.12 (t, 0.7H, H-4'β, J=7.4Hz)

The separation between the alpha anomer and the beta-anomer was carried out in accordance with Synthesis Example 5.

Test Examples

(Methods)

(1) Anti-HSV-1 Activity and Anti-HSV-2 Activity

1. Fibroblasts derived from human embryonic lung tissue are subcultured in an Eagle's MEM supplemented with 10% of pseudo fetal calf serum (Mitsubishi Chemical Corp.), by passing at 1 : (2-4) split every 4 or 5 days.
2. A cell suspension obtained from the parent cells by passing at 1:2 split is seeded on a 12-well multiplate at a rate of 2 ml/well, and incubated in a CO₂-incubator at 37°C for 4 days.
3. The culture medium is discarded; a Hanks' MEM (250 microliters) containing 50 to 150 PFU of the VR-3 strain of HSV-1 or the MS strain of HSV-2 is inoculated, thereby allowing the cells to adsorb the virus at 37°C for 30 minutes; and then the virus liquid is discarded.
4. A serum (2.5%)-added Eagle's MEM containing a test agent and 0.8 % of methyl cellulose is added; and the resultant is incubated in a CO₂-incubator at 37°C for 2 to 3 days. In general, the test agent is diluted serially by 1/2log10.
5. The culture medium is discarded, and the resultant is dyed with a 0.5% solution of crystal violet; the number of plaques in each well is counted under a stereoscopic light microscope; and the rate of plaque-formation inhibition is obtained from the equation below.
6. The rates of plaque-formation inhibition are plotted against the concentrations (in logarithm) of the test agent, and, from this dose - plaque-formation inhibition curve, 50% inhibitory concentration (ED₅₀) of the test agent is obtained.

$$\text{Rate of Inhibition (\%)} = \left(1 - \frac{\text{the number of plaques in wells containing the test agent}}{\text{the number of plaques in wells containing no test agent (control)}} \right) \times 100$$

(2) Anti-Varicella Zoster Virus (VZV) Activity

1. Fibroblasts derived from human embryonic lung tissue are subcultured in an Eagle's MEM supplemented with 10% of pseudo fetal calf serum (Mitsubishi Chemical Corp.), by passing at 1 : (2-4) split every 4 or 5 days.
2. A cell suspension obtained from the parent cells by passing at 1:2 split is seeded on a 12-well multiplate at a rate of 2 ml/well, and incubated in a CO₂-incubator at 37°C for 4 days.
3. The culture medium is discarded; and 750 microliters of a serum (5%)-added Eagle's MEM containing 50 to 100 PFU of the Oka strain of VZV is inoculated, thereby allowing the cells to adsorb the virus at 37°C for 1 hour.
4. The same amount of an MEM containing a test agent is added without discarding the virus liquid, and the resultant is incubated in a CO₂-incubator at 37°C. In general, the test agent is diluted serially by 1/2log10.
5. After 4-5 day incubation, the culture medium is discarded, and the resultant is dyed with a 0.5% solution of crystal violet; the number of plaques in each well is counted under a stereoscopic light microscope; and the rate of plaque-formation inhibition is obtained from the same equation as is used in the above (1).
6. The rates of plaque-formation inhibition are plotted against the concentrations (in logarithm) of the test agent, and, from this dose - plaque-formation inhibition curve, 50% inhibitory concentration (ED₅₀) of the test agent is obtained.

(3) Anti-Human Cytomegalovirus (HCMV) Activity

1. Fibroblasts derived from human embryonic lung tissue are subcultured in an Eagle's MEM supplemented with 10% of pseudo fetal calf serum (Mitsubishi Chemical Corp.), by passing at 1 : (2-4) split every 4 or 5 days.
2. A cell suspension obtained from the parent cells by passing at 1:2 split is seeded on a 24-well multiplate at a rate of 0.8 ml/well, and incubated in a CO₂-incubator at 37°C for 4 days.
3. The culture medium is discarded; and 400 microliters of a serum (5%)-added Eagle's MEM containing 50 to 100 PFU of the AD-169 strain of HCMV is inoculated, thereby allowing the cells to adsorb the virus at 37°C for 1 hour.
4. The same amount of an MEM containing a test agent is added without discarding the virus liquid, and the result-

ant is incubated in a CO₂-incubator at 37°C for 4 days. In general, the test agent is diluted serially by 1/2log10.

5. The culture medium is replaced with a serum (2.5%)-added Eagle's MEM containing the test agent with the same concentration and 0.8% of methyl cellulose, and incubation is continued for a further 4 to 5 days.

6. The culture medium is discarded, and the resultant is dyed with May-Gruenwald's and Giemsa (x 10) solutions; the number of plaques in each well is counted under a stereoscopic light microscope, and the rate of plaque-formation inhibition is obtained from the same equation as is used in the above (1).

7. The rates of plaque-formation inhibition are plotted against the concentrations (in logarithm) of the test agent, and, from this dose - plaque-formation inhibition curve, 50% inhibitory concentration (ED₅₀) of the test agent is obtained.

(Results)

The results of the above tests are shown in the following Table 1.

Table 1

Compound	Antiviral Activity (ED ₅₀ , µg/ml)			
	HSV-1	HSV-2	VZV	HCMV
Synthesis Example 1 (B = adenine, R = H in formula [I])	1.61	3.07	3.04	1.41
Synthesis Example 2 (B = 2,6-diaminopurine, R = H in formula [I])	0.0057	0.050	0.101	0.066
Synthesis Example 3 (B = guanine, R = H in formula [I])	0.0091	0.063	0.095	0.078
Control Example 1 (araA)	17.1	6.6	1.17	6.5
Control Example 2 (acyclovir)	0.14	0.23	2.72	6.9
Control Example 3 (ganciclovir)	0.016	0.039	3.1	0.21

Formulation Example 1: Tablet

Compound of the invention	30.0 mg
Cellulose fine powder	25.0 mg
Lactose	39.5 mg
Starch	40.0 mg
Talc	5.0 mg
Magnesium stearate	0.5 mg

Tablets are prepared by a conventional method according to the above composition.

Formulation Example 2: Capsule Formulation

Compound of the invention	30.0 mg
Lactose	40.0 mg
Starch	15.0 mg
Talc	5.0 mg

A capsule formulation is prepared by a conventional method according to the above composition.

Formulation Example 3: Injectable Formulation

5

Compound of the invention	30.0 mg
Glucose	100.0 mg

An injectable formulation is prepared by dissolving the above ingredients in purified water for injections.

10

INDUSTRIAL APPLICABILITY

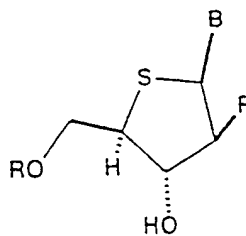
The compounds of the present invention have excellent antiviral activity, and are expected to be developed into pharmaceuticals. Further, the production processes of the present invention can be practiced by using inexpensive materials as starting materials with a small number of steps and simple operation, so that they are extremely practical as processes for producing 9-(2-deoxy-2-fluoro-4-thio-beta-D-arabinofuranosyl)purine derivatives.

15

Claims

- 20 1. A 9-(2-deoxy-2-fluoro-4-thio-beta-D-arabinofuranosyl)purine derivative represented by formula [I]:

25



30

[I]

35

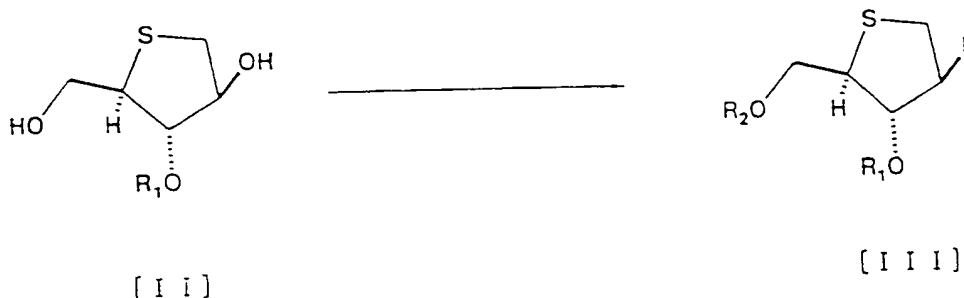
wherein B represents a base selected from the group consisting of purine, azapurine and deazapurine, which may be substituted with halogen, alkyl, haloalkyl, alkenyl, haloalkenyl, alkynyl, amino, alkylamino, hydroxyl, hydroxyamino, aminoxy, alkoxy, mercapto, alkylmercapto, aryl, aryloxy or cyano; and R represents a hydrogen atom or a phosphoric acid residue.

40

2. The compound according to claim 1, which is 9-(2-deoxy-2-fluoro-4-thio-beta-D-arabinofuranosyl)adenine.
3. The compound according to claim 1, which is 9-(2-deoxy-2-fluoro-4-thio-beta-D-arabinofuranosyl)-2,6-diaminopurine.
- 45 4. The compound according to claim 1, which is 2-chloro-9-(2-deoxy-2-fluoro-4-thio-beta-D-arabinofuranosyl)adenine.
5. The compound according to claim 1, which is 2-fluoro-9-(2-deoxy-2-fluoro-4-thio-beta-D-arabinofuranosyl)adenine.
- 50 6. The compound according to claim 1, which is 9-(2-deoxy-2-fluoro-4-thio-beta-D-arabinofuranosyl)guanine.
7. A pharmaceutical composition comprising as an active ingredient a compound set forth in claim 1.
- 55 8. The pharmaceutical composition according to claim 7, which is used as an antiviral agent.
9. A process for producing a 9-(2-deoxy-2-fluoro-4-thio-beta-D-arabino-furanosyl)purine derivative set forth in claim 1, comprising the following 1st to 3rd steps:

1st step:

a step of reacting a compound represented by formula [II] with diethylaminosulfur trifluoride (DAST) after protecting the primary hydroxyl group of the compound [II], thereby obtaining a compound represented by formula [III]:



wherein R_1 and R_2 represent an alkyl, silyl or acyl group;

2nd step:

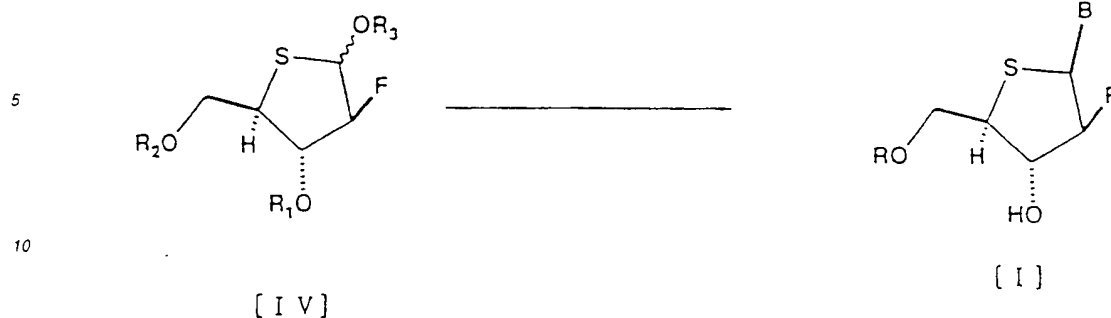
a step of converting the compound represented by formula [III] into a sulfoxide by reacting the compound [III] with an oxidizing agent, and subjecting the sulfoxide to Pummerer rearrangement reaction by treating it with an acid anhydride or acid chloride, thereby obtaining a compound represented by formula [IV]:



wherein R_1 and R_2 are as defined above, and R_3 represents an acyl group; and

3rd step:

a step of subjecting the compound represented by formula [IV] and a base represented by B to glycosylation reaction in the presence of a Lewis acid catalyst to obtain a protected compound, removing the protecting groups, and, if desired, phosphorylating the 5'-position of the sugar moiety of the compound, thereby obtaining a 9-(2-deoxy-2-fluoro-4-thio-beta-D-arabinofuranosyl)purine derivative represented by formula [I]:

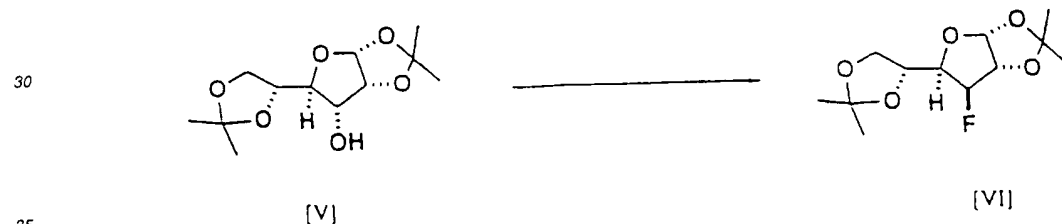


15 wherein R_1 , R_2 and R_3 are as defined above; B represents a base selected from the group consisting of purine, azapurine and deazapurine, which may be substituted with halogen, alkyl, haloalkyl, alkenyl, haloalkenyl, alkynyl, amino, alkylamino, hydroxyl, hydroxyamino, aminoxy, alkoxy, mercapto, alkylmercapto, aryl, aryloxy or cyano; and R represents a hydrogen atom or a phosphoric acid residue.

20 10. A process for producing a compound set forth in claim 1, comprising the following 1st to 4th steps:

1st step:

25 a step of introducing a leaving group into the hydroxyl group on a compound represented by formula [V], and treating the compound with a nucleophilic reagent by which a fluorine atom can be introduced, thereby obtaining a compound represented by formula [VI]:

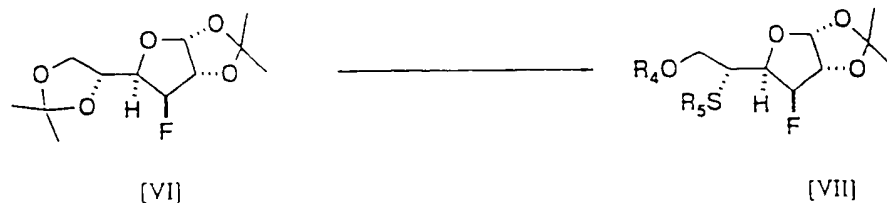


40 2nd step:

45 a step of selectively deprotecting the isopropylidene group at the 5- and 6-positions of the compound represented by formula [VI], selectively protecting the primary hydroxy group of the compound, introducing a leaving group into the secondary hydroxyl group of the compound, deprotecting the primary hydroxyl group, performing 5,6-epoxidation, performing 5,6-thiirane by using a sulfurizing reagent, opening the thiirane ring by using a nucleophilic reagent, and causing acylation, thereby obtaining a compound represented by formula [VII]:

50

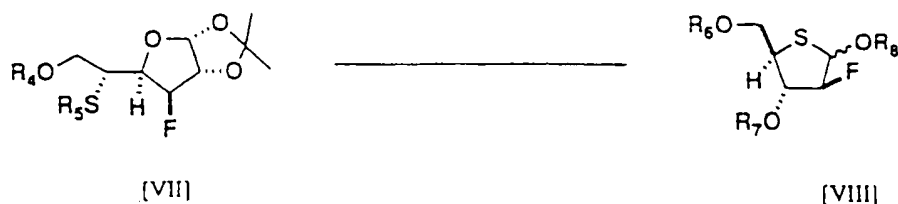
55



10 wherein R_4 and R_5 represent an alkyl or acyl group;

15 3rd step:

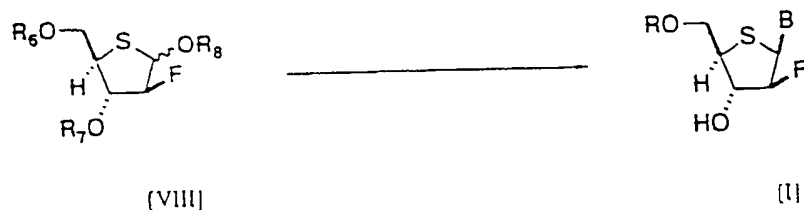
a step of hydrolyzing the isopropylidene group at the 1- and 2-positions of the compound represented by formula [VII], carrying out oxidation by using an oxidizing agent, alkoxyating the 1-position of the compound, and protecting the hydroxyl group with a protecting group, thereby obtaining a compound represented by formula [VIII]:



25 wherein R_4 and R_5 are as defined above, R_6 and R_7 represent an alkyl or acyl group, and R_8 represents an alkyl group; and

30 4th step:

35 a step of brominating the alkoxy group at the 1-position of the compound represented by formula [VIII] by treating the compound [VIII] with a hydrogen bromide-acetic acid solution, subjecting the brominated compound and an activated base represented by B to glycosylation reaction to obtain a protected compound, removing the protecting group, and, if desired, phosphorylating the 5'-position of the sugar moiety of the compound, thereby obtaining a 9-(2-deoxy-2-fluoro-4-thio-beta-D-arabinofuranosyl)purine derivative represented by formula [I]:



45 wherein R_6 , R_7 and R_8 are as defined before; B represents a base selected from the group consisting of purine, azapurine and deazapurine, which may be substituted with halogen, alkyl, haloalkyl, alkenyl, haloalkenyl, alkynyl, amino, alkylamino, hydroxyl, hydroxyamino, aminoxy, alkoxy, mercapto, alkylmercapto, aryl, aryloxy or cyano; and R represents a hydrogen atom or a phosphoric acid residue.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP97/01205

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int. Cl⁶ C07D473/00, 473/16, 473/18, 473/34, A61K31/52,
C07H19/19, 19/20

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int. Cl⁶ C07D473/00, 473/16, 473/18, 473/34, A61K31/52,
C07H19/19, 19/20

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

CAS ONLINE

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	JP, 5-505791, A (University of Birmingham and another), August 26, 1993 (26. 08. 93), Claim; page 6, upper left column & EP, 421777, A	1 - 8 9
Y	JP, 7-300493, A (CIBA-Geigy AG.), November 14, 1995 (14. 11. 95), Claim; page 10 & EP, 679657, A	1 - 8 9
Y	JP, 7-25856, A (Bristol-Myers Squib Co.), January 27, 1995 (27. 01. 95), Claim & EP, 630897, A	1 2 - 9
Y	JP, 3-264582, A (The Noguchi Institute), November 25, 1991 (25. 11. 91), Claim (Family: none)	1 2 - 9

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C.

☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier document but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search
June 17, 1997 (17. 06. 97)

Date of mailing of the international search report
June 24, 1997 (24. 06. 97)

Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office
Facsimile No.

Authorized officer
Telephone No.

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (July 1992)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP97/01205

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	JP, 5-508152, A (Southern Research Institute), November 18, 1993 (18. 11. 93) & EP, 525106, A & US, 5128458, A	1 - 9

Form PCT/ISA/210 (continuation of second sheet) (July 1992)